

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1932

N° 65

THÈSE
POUR LE
DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1932

PAR

Auguste CARLIER

Né le 13 Mars 1908, à Verchain-Maugré (Nord)

LA BRUCELLOSE BOVINE
SON DIAGNOSTIC

JURY :

Président : M. LEMIERRE, Professeur à la Faculté de Médecine

Assesseurs { M. LESBOUYRIES }
 { M. PANISSET } Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

LES PRESSES MODERNES

IMPRIMERIE

45, RUE DE MAUBEUGE

PARIS

1932

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1932

65

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1932

PAR

Auguste CARLIER

Né le 13 Mars 1908, à Verchain-Maugré (Nord)

LA BRUCELLOSE BOVINE

SON DIAGNOSTIC

JURY :

Président : M. LEMIERRE, Professeur à la Faculté de Médecine

Assesseurs { M. LESBOUYRIES }
 { M. PANISSET } Professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

LES PRESSES MODERNES

IMPRIMERIE

45, RUE DE MAUBEUGE

PARIS

1932

Personnel Enseignant de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE

Directeur : M. E. NICOLAS

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires, P.-J. CADIOT, H. VALLÉE.

Professeurs et Chargés de Cours

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques	BRESSOU.
Physiologie thérapeutique générale	MAIGNON.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, pharmacie	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémio- logie et propé eutique, jurisprudence	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique	LESBOUYRIES
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique ; autopsies	PETIT.
Zootchnie et économie rurale	DECHAMBRE
Agronomie, botanique et hygiène , matière médicale	DECHAMBRE et HENRY.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale	VERGE.

Professeur Agrégé

M. LESBOUYRIES

Chef de Travaux Agrégé

M. SIMONNET

Chefs de Travaux

MM. MONVOISIN.

VALADE.

MOUSSU (R).

BRION.

GORET.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



A Monsieur le Professeur LEMIERRE

de la Faculté de Médecine de Paris

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

A Monsieur le Professeur LESBOUYRIES

A Monsieur le Professeur PANISSET

A mes Maîtres de l'Ecole d'Alfort

Je fais hommage de ce modeste travail :

A mes grands-Parents,

A mon Père, à ma Mère,

A ma Fiancée,

A mon Frère, à ma belle-Sœur
et à ma Nièce,

A ma Famille,

A mes Amis.

A tous ceux dont l'affectueuse ou amicale
sympathie a veillé sur mon enfance ou guidé ma
jeunesse.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552604_0022

INTRODUCTION

La Brucellose de l'espèce bovine est une infection générale, essentiellement chronique, qui se traduit le plus souvent par des avortements en série.

Ces symptômes, longtemps rapportés à une affection génitale localisée, ont fait donner à la maladie, jusqu'à ces dernières années, le nom impropre « d'avortement épizootique ». Il est reconnu aujourd'hui que la brucella peut infecter le mâle comme la femelle.

De plus, chez cette dernière, l'avortement n'est pas constant. Dans de nombreuses circonstances, une infection véritable ne se traduit par aucun trouble perceptible des fonctions reproductrices. Tel est le cas des vaches, qui, par suite de l'évolution de la maladie et de l'établissement, consécutif ou non, d'un état de prémunition, sont devenues réfractaires à l'avortement mais n'en continuent pas moins à héberger les germes spécifiques.

De l'avis unanime, il convient de donner à cette infection une appellation plus rationnelle. Celle de « maladie de Bang » est assez couramment employée.

Nous croyons devoir adopter ici la dénomination de « Brucellose Bovine » qui a, elle aussi, de nombreux partisans. Elle nous paraît plus logique et surtout plus expressive eu égard au nom donné actuellement à son agent. Une morphologie, des caractères culturels, des propriétés sérolo-

giques identiques, un pouvoir pathogène souvent voisin, n'ont-ils pas, après que Miss Alice Evans eût en 1918 montré leur étroite parenté, amené nos savants à classer les microbes de la Fièvre ondulante et de « l'avortement épizootique » en un même genre *Brucella*, groupant les deux espèces *Mélitensis* et *Abortus*.

L'échec des multiples essais de traitement, les dangers que présente la pratique des prémunitions doivent logiquement orienter la lutte entreprise contre cette infection vers la prophylaxie hygiénique par l'isolement et la ségrégation.

Ces méthodes ne pourront être appliquées avec succès que lorsqu'elles auront pour base un diagnostic sûr, pratique et rapide, car « il ne peut y avoir d'interventions curatives ou prophylactiques heureuses qu'autant qu'elles s'adressent à la cause même du mal ».

Les résultats fournis par l'emploi rationnel de la malléine, ceux que l'on peut espérer obtenir de la tuberculine, sont de nature à encourager la recherche de procédés diagnostics présentant des qualités analogues de précision et de simplicité.

Nous ne prétendons pas apporter ici d'éléments nouveaux susceptibles de modifier les méthodes actuellement employées pour la recherche de la Brucellose bovine. Nous avons simplement pensé qu'il était intéressant d'exposer et de comparer quelques-uns des procédés mis en œuvre à cet effet.

Après avoir rappelé *l'importance de la maladie* pour les différentes espèces animales et pour l'homme, nous envisagerons :

le diagnostic clinique, basé sur la connaissance des symptômes et des lésions tant chez le mâle que chez la femelle ;

le diagnostic bactériologique, par l'examen microscopique des caractères morphologiques du microbe et par les cultures ;

le diagnostic expérimental, comprenant principalement dans l'ordre :

a) les inoculations

b) la déviation du complément

c) les procédés basés sur l'agglutination :

l'agglutination macroscopique lente,

l'agglutination macroscopique rapide,

l'agglutination microscopique rapide,

l'hémoagglutination,

l'abortoscope de Bevaux.

d) la réaction allergique.

Nous terminerons par l'étude du *diagnostic différentiel* et spécialement des rapports de *Brucella abortus* et *Brucella melitensis*.

Malheureusement, les circonstances dans lesquelles ce travail fut effectué, le peu d'étendue et l'instabilité de notre champ d'action, ne nous ont pas permis de donner à chaque méthode l'attention qu'elle mérite. D'autres plus qualifiés les avaient d'ailleurs expérimentées séparément avant nous.

Nous avons dû nous contenter de nous rendre compte, par quelques essais, de la mise en œuvre de certaines d'entre elles, puis de nous baser sur les résultats déjà acquis.

Nous nous permettons de remercier ici Monsieur Rinjard de l'attention qu'il nous a toujours accordée, des pré-

cieux conseils qu'il nous a prodigués pour le choix de l'élaboration de ce travail.

Nous exprimons également notre reconnaissance à Monsieur le Professeur Lesbouyries, qui fut pour nous le maître le plus bienveillant et le guide le plus sûr.

CHAPITRE PREMIER

IMPORTANCE DE LA BRUCELLOSE

La qualité et le nombre des auteurs qui se sont attachés à l'étude de la brucellose, la multitude des travaux qui y ont été consacrés, suffiraient à convaincre les plus sceptiques de l'importance de cette maladie.

I. — IMPORTANCE ÉCONOMIQUE

Un simple aperçu de ses conséquences, tant économiques que pathogéniques, montre que, si au siècle dernier on a pu la qualifier de « malédiction », c'est à juste titre que certains auteurs en font aujourd'hui le « fléau du cheptel ».

A. — IMPORTANCE POUR L'ESPÈCE BOVINE.

Maladie bénigne en ce sens qu'elle ne compromet qu'exceptionnellement la santé de l'individu, elle acquiert par ses conséquences économiques une gravité considérable.

A côté, lors d'avortement, de la perte du veau deux ou trois années de suite, quelquefois plus, il faut noter les répercussions graves de l'infection de la mère sur la santé du produit, lors d'accouchement normal en apparence.

C'est à cette cause, qu'il faut attribuer souvent la forte proportion de jeunes qui succombent quelques jours après

leur naissance et le troupeau de ceux qui, nés malingres, sont livrés sans défense aux infections meurtrières des nouveaux nés.

Il convient d'ajouter à ce tableau :

La diminution de la production laitière très variable, comme le montrent les nombreuses statistiques, mais que l'on peut avec Leroy, Sims, Miller, etc..., évaluer au tiers de la production normale.

La rétention des enveloppes excessivement fréquente, même dans les parts normaux ; ses conséquences qui vont du simple retard dans le cycle reproducteur de la femelle aux infections secondaires des organes génitaux, à la métrite, à la stérilité.

Les arthrites infectieuses d'allure parfois épizootique, avec leurs résultats toujours désastreux pour l'état d'embonpoint et la production du sujet atteint.

Les orchites, heureusement peu fréquentes, mais toujours graves parce qu'elles entraînent la réforme des reproducteurs de valeur et apportent des perturbations sérieuses dans la sélection et l'amélioration des races bovines.

Enfin, les mammites à l'état latent, les hygromas, les colentions purulentes variées.

La diversité des symptômes, les répercussions éloignées des accidents que cause cette infection rendent très difficile l'évaluation des dégâts que l'on doit lui imputer.

De nombreux chercheurs ont cependant essayé de la faire dans différents pays.

Notons, à titre d'exemple, qu'aux Etats-Unis, où la maladie a pris ces dernières années une extension considérable, puisque dans certaines contrées la proportion des troupeaux infectés dépasse 50 %, W.-E. Cotton considère l'estimation

des pertes au chiffre de 1 milliard 250 millions comme nettement insuffisante.

B. — IMPORTANCE POUR LES AUTRES ANIMAUX.

Il ne faut pas perdre de vue que *brucella abortus* est capable d'infecter un grand nombre d'animaux, en particulier, le porc, le cheval et le mulet, le mouton, la chèvre, etc...

L'espèce porcine peut être infectée comme le prouvent les cas signalés par Haye et Traum en Amérique, par Marcis en Hongrie.

D'après Cotton, la relation entre la maladie des bovins et des porcs n'a pas encore été établie. Il semble difficile d'infecter, expérimentalement, la vache avec une souche porcine d'*abortus* et inversement la truie avec une souche bovine.

Schrøder et Cotton, puis Cotton et Buck, n'ont pu obtenir l'infection de la truie par les voies naturelles avec des *brucella* isolées des bovins, alors qu'ils réussissent toujours avec celles qui proviennent des porcs. La chose est cependant réalisable, si l'on introduit l'agent dans les replis de la conjonctive ou sous la peau.

Il faut considérer que l'infection naturelle diffère souvent, par ses résultats, des expériences même les mieux conduites, et ne retenir que la possibilité d'infection, par la variété bovine de *brucella abortus*, de l'espèce porcine.

Ces animaux, en général nourris de lait ou de ses sous-produits, les uns et les autres souvent virulents, sont particulièrement exposés à la contamination par la vache.

Les accidents produits se rapprochent de ceux observés chez les bovins.

Ils se résument, le plus souvent, en des avortements infectieux, à la suite desquels les truies sont très malades pendant deux à trois semaines, mais se rétablissent très rapidement. W.-E. Cotton signale que l'on peut trouver des infections génitales graves, provoquées par la rétention de débris placentaires et se traduisant par de la métrite chronique, de la métropéritonite et des lésions ovariennes.

Les verrats semblent être touchés beaucoup plus souvent que les taureaux ; ils jouent probablement un rôle important dans la transmission des germes.

Les jeunes succombent en grand nombre à la maladie.

Les Professeurs Uranow et Bohl ont décrit, comme séquelles de ces accidents épizootiques dus à *brucella abortus*, la stérilité d'un nombre considérable de mères et de fréquentes boiteries des postérieurs.

La maladie n'a pas ici la même gravité que pour les bovins.

Ceci paraît trouver une explication dans les conditions spéciales qui président à l'élevage du porc et le peu de réceptivité que montre cet animal pour les microbes de souche bovine.

Il est intéressant de noter que le passage du bacille abortif dans l'espèce porcine s'accompagne d'une transformation de ses propriétés :

Les souches isolées de cette espèce conservent leurs caractères morphologiques, mais elles poussent très bien à l'air libre, lors d'un premier isolement, et se montrent généralement plus virulentes.

Les expériences effectuées en 1929 par Forest Huddleson et Hallman ont montré que ces souches étaient plus patho-

gènes pour le singe, que celles du mélitensis ou de l'abortus isolé de l'organisme bovin.

D'après Schröder et Cotton, la différenciation des origines de l'abortus serait possible, la difficulté de l'infection réciproque mise à part, grâce à ce fait, que leur inoculation au cobaye ne donne pas les mêmes lésions. Avec les brucella isolées du porc, on trouve une tendance à la nécrose et aux affections des os ; il apparaît des localisations anormales, au niveau des orbites par exemple.

L'espèce chevaline est beaucoup moins fréquemment atteinte.

Les chances d'infection sont réduites : l'ingestion de lait par les chevaux est, en France du moins, un fait exceptionnel ; de plus, ils sont entretenus dans des bonnes conditions hygiéniques.

Il semble cependant que, dans quelques circonstances, la transmission du germe abortif aux équidés peut avoir lieu, surtout par le contact.

Rinjard a signalé des avortements chez la jument où le rôle de brucella abortus ne peut être mis en doute.

La maladie se traduit, plus généralement, par des localisations pyogènes :

Rinjard et Hilger, dans une région où les accidents suppuratifs au niveau du garrot et de la nuque, accompagnés de nécrose tendineuse ou aponévrotique, étaient fréquents, ont mis en évidence l'action de ce microbe, comme générateur de tels accidents.

Van der Hoeden, à la suite de recherches sur la présence de la brucella chez le cheval, a signalé la possibilité de lui attribuer des infections pyogènes variées.

Hulten a signalé un cas de contamination typique par la vache.

Fitch, Lucile Bishop et L. Boyd, étudient aussi la question : examinant 61 cas de fistules nécrotiques et de maux de garrot, ils obtiennent une agglutination à un taux égal ou supérieur à 1 % dans 76 % des cas. Ils mettent le microbe en évidence par culture sur 22 % des malades.

Ces mêmes auteurs n'arrivent à reproduire les lésions, que par inoculation directe du germe dans le ligament cervical.

L'infection des équidés ne serait pas exceptionnelle, aussi sans imputer systématiquement à l'agent de la brucellose toutes les suppurations persistantes, y a-t-il lieu de le suspecter dans les fermes où les bovidés sont infectés, lorsque les accidents ne relèvent d'aucune blessure grave, ou deviennent fréquents sans raison.

Les espèces ovine et caprine, ne semblent pas, jusqu'à présent, avoir subi de pertes bien alarmantes. Elles sont cependant sensibles aux brucella.

On sait depuis longtemps, que le mélitensis est pathogène pour ces animaux.

On peut admettre que l'abortus est aussi capable de les infecter, malgré la difficulté que l'on éprouve à en apporter la preuve et à déterminer la part qui revient à chacun des deux germes voisins. De nombreuses observations établissent que la maladie peut revêtir, chez la brebis, la même allure que chez la vache.

La brucellose ovine et caprine se traduit par des avortements qui surviennent du troisième au quatrième mois de la gestation. Ils ne sont pas constants et ne se produisent qu'une fois pour une même femelle. On observe aussi de la stérilité transitoire, de la métrite purulente ; des dimi-

nutions ou suppressions de la sécrétion lactée ; des pertes nombreuses d'agneaux venus à terme, par septicémie brucellique ou arthrites spécifiques.

D'autres espèces animales peuvent être infectées par les brucella.

A côté des animaux de laboratoire, sensibles à ces microbes, comme le cobaye, le lapin, le rat, etc..., il faut citer les carnivores, les oiseaux.

Van Saceghem a rapporté qu'au Congo belge, dans certaines fermes, des avortements chez la chienne étaient constatés en même temps que chez la vache.

Les chiens peuvent s'infecter par le contact ou l'ingestion de lait bacillifère, de produits virulents, et propager la brucellose bovine, comme la fièvre ondulante.

Dargène et Bazy ont attribué un foyer épidémique de celle-ci, à une chienne reconnue malade. Dans certains cas, l'avortement de cet animal peut être le point de départ du diagnostic de l'infection chez les bovins.

An Amérique, des chats ont été trouvés porteurs de brucella abortus.

L'année dernière, Violle a signalé comme possible la transmission de la fièvre ondulante par les oiseaux. Des expériences ont montré que certains de ceux-ci, comme le pigeon, le pinson, la grive, s'infectent facilement. Il en serait de même de la poule, de la pintade, etc...

Les sujets infectés succombent à la maladie ou demeurent porteurs de germes.

En résumé, les dangers de la maladie déjà considérables pour la seule espèce bovine, sont encore augmentés par la transmission à de nombreux autres animaux.

En dehors des pertes causées à ceux-ci, ces circonstances

constituent toujours de nouvelles sources de germes, et accroissent sensiblement les dangers que la brucellose bovine fait courir au genre humain.

II. — IMPORTANCE ÉPIDEMIOLOGIQUE.

Elle égale et dépasse même ici, l'importance économique. Elle est la conséquence en dehors de l'extension de cette maladie à différentes espèces animales, comme nous venons de le voir, de sa possibilité de transmission à l'espèce humaine, due à la parenté très étroite des *brucella abortus* et *mélitensis*.

TRANSMISSION A L'HOMME

Le grand nombre de personnes exposées journellement à l'infection par *abortus*, autant par contact avec les animaux malades que par absorption de lait bacillifère, donne une singulière importance à cette question. Aussi, s'en est-on beaucoup occupé ces dernières années.

A la suite des audacieux essais de transmission expérimentale de l'infection à l'homme, effectués par Nicolle, Burnet et Conseil, il paraissait démontré que l'*abortus* et le *mélitensis* se différenciaient par le pouvoir pathogène de ce dernier pour l'être humain.

Cette conception, d'abord adoptée par tous, n'a pas tardé à être battue en brèche :

La Fièvre ondulante est apparue dans des pays souvent très éloignés de son aire géographique, à la suite de la brucellose bovine. C'est Bévan, en Rhodésie du Sud, qui, le premier, a attiré l'attention sur l'apparition de troubles analogues à ceux de la fièvre ondulante, chez des personnes n'ayant jamais consommé de lait de chèvre.

Peu après, Keefer et Evans, en Amérique, rapportent un cas d'infection, avec mise en évidence du bacille dans le sang, chez un sujet consommant habituellement du lait de vache à l'état cru.

Une relation analogue est faite à la même époque par Orpen, en Rhodésie.

Depuis, aux Etats-Unis, en Suède, en Norvège, au Danemark, en Bavière..., ces cas ont été signalés avec une fréquence, qui, à partir de 1925, augmente chaque année.

Après Carpenter, Veilchenblau, Kling, Kirstensen, Habs, etc..., une nuée d'auteurs ont observé cette transmission.

Tout dernièrement, la maladie a été signalée en Argentine par Salvador Mazza et ses collaborateurs.

En Amérique, d'après Alice Evans, pour 217 cas signalés en 1927, il y en eut 1.301 en 1929. Cette même année, Simpson a observé 1.305 infections dont 968 ont été déclarées : Hardy en a relevé 383 cas, dont 200 dans le seul état de l'Iowa, et Hasseltine en a étudié 109 dans différentes régions.

En Suède, Van der Hoeden, pour 1928, en rapporte 17 cas observés au Central Laboratorium.

Kirstensen, au Danemark, note qu'en 1927, sur 1.177 échantillons de sang examinés, pour suspicion de fièvre typhoïde, 89 se sont montrés infectés par *brucella abortus*. Les années suivantes, la proportion augmente ; elle est de 222 sur 2.150 sérums, puis de 500, sur un total équivalent. D'après le docteur Madsen, la fièvre ondulante, incontestablement d'origine bovine, y serait plus fréquente que la fièvre typhoïde.

En France, les cas d'infection générale, par *brucella* d'origine bovine, ont été rarement signalés et sont peu

démonstratifs, malgré l'extension et l'importance chaque jour plus grande que prend la brucellose dans notre cheptel.

Cette anomalie trouve un début d'explication dans la fréquence de la contamination par ingestion.

L'appareil digestif constitue, en effet, une voie de pénétration importante, comme le montrent les nombreux cas de transmission de la maladie aux grands buveurs de lait cru. Beaucoup d'auteurs, parmi lesquels Keefer, Dancan, Habs, ont signalé ce fait.

Dans ce cas, d'après Hardy, l'absorption de petites quantités ne produirait rien ; seules les doses massives et répétées amèneraient l'infection.

Sur 17 observations, Van der Hoeden rapporte sept fois la maladie à la consommation de lait ou de crème à l'état cru. Hasseltine, sur 442, signale 198 cas, observés dans les villes sur des personnes n'ayant jamais été en rapport avec les animaux, que l'on peut attribuer exclusivement au lait ou produits dérivés, et 200 autres, dans les campagnes, où ce mode de contamination peut encore être envisagé.

D'après cet auteur, dans les villes des Etats-Unis du Nord, où la pasteurisation n'est pas obligatoire, l'affection dénonce les buveurs de lait cru avec autant de précision que la variole les personnes non vaccinées.

Cette source d'infection perd toute son importance dans des pays où, comme en France, avant sa consommation, le lait est généralement bouilli ou porté à une température suffisante pour détruire le microbe en cause.

Il est un autre mode de transmission : le contact. Il intervient le plus souvent lorsque l'infection reconnaît pour origine l'espèce porcine ; lorsque les personnes atteintes, praticiens ou autres, ont assisté à l'accouchement de

vaches infectées, ont manipulé des produits organiques issus d'avortement.

La pénétration du microbe par les muqueuses, et surtout par la peau, n'a pas eu, jusqu'à présent, d'après Hardy, M. Hudson, M. C. F. Jordan, l'attention qu'elle mérite.

Ces auteurs, ayant observé souvent l'infection, dans les fermes, d'hommes s'occupant de troupeaux contaminés mais ne consommant pas de lait, ont entrepris des expériences. Ils ont montré que la peau normale du cobaye est plus vulnérable que le tractus digestif.

Se basant sur les relations épidémiques, ils ont conclu qu'il en était de même pour l'homme.

Les brucella, abortus comme mélitensis, pourraient pénétrer par la peau, sans causer la moindre lésion locale. Les solutions de continuité ne seraient pas nécessaires, mais faciliteraient cependant grandement l'infection.

Les symptômes que détermine chez l'homme, l'agent de la brucellose bovine, sont assez variés.

Ils paraissent dépendre de facteurs nombreux et mal déterminés, parmi lesquels on peut comprendre la réaction de l'individu, les modalités de la contamination et surtout la voie de pénétration du germe, la virulence de celui-ci au moment de l'infection, l'influence saisonnière, etc...

Ils peuvent être identiques à ceux de la brucellose mélitococcique et se traduire surtout par une fièvre ondulante.

La courbe des températures a des maxima très élevés ; elle est en ondes successives, dont l'amplitude variable est d'environ trois semaines, séparées par de courts intervalles d'apyrexie.

La fièvre s'établit lentement. La température s'élève pen-

dant une dizaine de jours, puis, quelquefois, elle diminue graduellement en une semaine et tout est fini.

Plus souvent, la courbe comporte deux ou trois ondes d'amplitudes inégales, et la maladie dure deux à quatre mois, exceptionnellement six mois et plus.

On peut, en outre, trouver de la congestion cutanée, des sueurs profuses, de la bradycardie, de la tuméfaction et de l'hypertrophie de la rate, du foie et des ganglions lymphatiques ; des douleurs articulaires ou en différents points du corps, sans altération visible ; de la constipation, de la congestion pulmonaire, des hémorragies nasales répétées, des orchites, de la sensibilité ovarienne, etc...

La maladie débute souvent, vraisemblablement lors d'infection digestive, par une angine catarrhale, s'accompagnant parfois d'une stomatite vésiculeuse.

Le symptôme principal : la forme ondulante de la courbe des températures, que les Américains ont donné comme caractéristique de l'infection de l'homme, peut faire défaut ou exister dans nombre d'autres maladies.

D'après C. Hegler, ce qu'il y a de remarquable, dans l'infection d'origine bovine, c'est la faible atteinte de l'état général ; alors que la température est très élevée, la conservation de l'appétit, la faiblesse du pouls.

En Amérique, Huddleson et Johnson ont signalé que chez les vétérinaires et les personnes qui ont manipulé du matériel infectant, la maladie se traduit souvent par une éruption cutanée, de petites pustules irrégulières, rougeâtres, accompagnées de prurit, et qui disparaissent en quelques heures.

En d'autres circonstances, il s'agit de papules discrètes avec démangeaisons qui s'effacent en trois ou quatre jours.

On peut avoir aussi une infection locale du bras, avec abcès multiples et réaction ganglionnaire. En France, ces localisations paraissent beaucoup plus fréquentes que la maladie générale.

On a pensé à rechercher l'action possible de brucella abortus pour certains cas d'avortement dans l'espèce humaine.

Devoir, Thierry, Lee, W. Williams, prétendent qu'elle n'intervient pas. Aucun fait précis n'est venu prouver le contraire.

Enfin, il faut signaler que cet agent infecte souvent l'homme sans déterminer le moindre trouble apparent. Sa présence n'est alors décélée que par les réactions sanguines, lorsque celles-ci sont mises en œuvre.

CONCLUSION

L'importance de la Brucellose bovine est considérable.

- 1°) Par les pertes qu'elle fait subir à l'espèce bovine, par les dégâts qu'elle cause chez les autres espèces animales ;
 - 2°) Par l'extension qu'elle prend dans le monde entier ;
 - 3°) Surtout parce que son agent est capable de provoquer chez l'homme une maladie sérieuse, conduisant généralement les sujets atteints à un état d'anémie grave et pouvant dans quelques cas amener la mort.
-

CHAPITRE II

DIAGNOSTIC CLINIQUE

C'est de toute évidence le procédé le plus simple et le plus naturel de reconnaître la maladie.

Pour tout matériel, il comporte la science du patricien qui observe les symptômes, étudie les lésions et recherche les circonstances épidémiologiques.

A. — ACCIDENTS CHEZ LA FEMELLE.

Le symptôme prédominant de l'infection des bovidés par *brucella abortus* est sans conteste l'avortement.

La maladie débute par une période d'incubation d'environ quinze jours, mais l'expulsion du fœtus ne se fait que deux ou trois mois après ; jusqu'à ce moment, rien ne traduit la présence du microbe.

L'accident peut, en principe, s'observer à toute époque de la gestation. Les statistiques nombreuses, faites à ce sujet, montrent qu'il survient, dans la majorité des cas, du sixième au huitième mois de la gestation avec une prédominance marquée pour le septième.

La fréquence serait pour ce mois, d'après Zwick et Zeller, de 52 % des cas.

Cet avortement ne présente pas de caractère particulier. Il s'annonce comme une mise bas normale, avec cependant,

une préparation moins complète et moins longue, surtout en ce qui concerne la glande mammaire. Grâce au développement incomplet de l'avorton, les coliques sont peu violentes, l'expulsion est facile.

Dans certains cas cependant, rapportés par Williams à la paresse utérine, elle peut traîner en longueur.

Le fœtus, s'il n'a que quelques mois, peut être rejeté avec ses enveloppes ; plus généralement il est expulsé seul et la mise bas se fait en deux temps.

La rétention du délivre est fréquente, presque de règle ; la délivrance artificielle est difficile, souvent impossible, en raison de la solidité des adhérences cotylédonnaires.

L'accident s'accompagne d'un écoulement vulvaire plus ou moins abondant, qui persiste plusieurs semaines.

De plus, même lorsque les enveloppes ont été expulsées normalement, la vache présente souvent de la métrite chronique. Cette affection qui, pendant son évolution, rend les vaches stériles et qui, si elle persiste, peut provoquer l'ectodermisation, la sclérose de l'utérus, a été rapportée, par Swen Wall, à une infection secondaire greffée sur les altérations superficielles dues à *brucella abortus*.

Il faut reconnaître, avec Schumann, que rarement la stérilité consécutive à cette maladie est persistante et que, le plus souvent, il n'y a qu'un retard dans le procédé d'involution de l'utérus.

Le produit d'expulsion, généralement mort lorsque la gestation est peu avancée ou que l'infection est particulièrement grave, peut cependant être vivant.

Dans ce cas, il est triste, malingre, peu vigoureux ; il meurt généralement en quelques heures.

Les *lésions* de l'avortement provoqué par la brucellose

bovine ont pour siège l'utérus de la vache infectée, l'avorton et ses annexes.

Au niveau de l'organe utérin, elles sont discrètes, sauf si l'on se trouve en présence d'une infection secondaire. Elles portent sur un certain nombre de cotylédons qui sont fermes, ont un aspect rosé et laissent sourdre, à la pression, une matière purulente.

Les lésions du fœtus varient avec le degré d'infection. Elles sont souvent nulles. L'avorton peut cependant présenter de l'œdème généralisé, avec un épanchement abondant au niveau des grandes séreuses.

Il peut être plus ou moins putréfié, et quelquefois momifié.

C'est sur les enveloppes que l'accident laisse les altérations les plus intéressantes. Elles sont faciles à étudier, surtout quand le fœtus est enveloppé.

Sur toute la surface externe du chorion, on trouve un abondant exsudat, grumeleux, peu consistant, de coloration jaunâtre, généralement inodore ; parfois, il se concrète en un magma demi-solide.

Au niveau des adhérences placentaires, les calottes placentaires malades sont hypertrophiées, leurs villosités sont épaisses, comme infiltrées de pus, macérées : elles sont décolorées, blanchâtre ou jaunâtre ; leur couleur tranche nettement avec celle, rouge vif, des houppes saines.

Le plus souvent ce sont les cotylédons correspondant à l'entrée de l'utérus qui sont atteints, ceux du fond étant restés sains.

Parfois, les altérations sont localisées à un même vaisseau ; plus rarement, elles sont disséminées sur toute la surface de l'œuf.

Le tissu conjonctif sous-chorial est très épaissi ; il ren-

ferme une substance gélatineuse, semi-fluide, contenant des fausses membranes. Ceci explique l'épaisseur du délivre et sa fragilité. Les eaux sont généralement troubles, sales, chargées de grumeaux, quelquefois, elles présentent une teinte café au lait ou chocolat.

Les *circonstances* dans lesquelles les avortements se produisent, sont de la plus grande importance.

La maladie débute par une femelle d'importation récente, généralement. L'accident, attribué à une cause banale, est vite oublié. Aucune précaution n'est prise contre la contagion possible, et, bientôt, les deux vaches voisines avortent à leur tour. Peu à peu toute l'étable est envahie.

Les avortements se succèdent d'abord à de longs intervalles, puis deviennent de plus en plus fréquents. Si on ne renouvelle pas l'effectif avec des animaux venus du dehors, les accidents sont surtout nombreux les deux ou trois premières années ; ils décroissent ensuite, pour arriver rapidement à un taux négligeable.

Au contraire, si dans une étable où les avortements se sont espacés ou même ont disparu, on introduit une vache saine, le microbe trouve en elle un terrain très favorable. Il récupère sa virulence et l'épizootie subit une recrudescence marquée.

Chez une même vache, les accidents successifs se produisent plus en plus près de la date de la mise bas normale, et finalement la gestation parvient à terme.

Ces particularités, signalées en premier lieu par Nocard et Bang, permettent de prévoir la disposition graduelle des accidents abortifs dans un effectif non renouvelé, grâce à l'atténuation de la virulence du germe et à l'établissement

progressif chez les femelles d'un certain état de prémunition.

Ces perturbations graves dans les fonctions reproductrices de la femelle, s'ils sont les méfaits les plus importants de la brucellose bovine, ne sont malheureusement pas les seuls. Cette maladie atteint aussi le mâle.

B. — ACCIDENTS CHEZ LE MÂLE.

Sa maladie ne détermine généralement aucun trouble apparent.

Lorsqu'elle se manifeste, elle se traduit par une orchite aiguë, subaiguë ou même chronique.

Dans ces affections signalées par Barendregt en 1913, on trouve de la fièvre, de l'inappétence, une absence totale de désirs sexuels ; de la tuméfaction indolore, surtout d'un testicule qui est plus pendant que l'autre. Springer a noté un certain engorgement des membres et des articulations.

La glande lésée est volumineuse, dure, sa structure est modifiée.

L'albuginée est épaissie, le parenchyme est devenu blanchâtre, fibreux, sa surface de section est sèche, irrégulière, à petits foyers de teinte gris jaunâtre. Il y a de la nécrose des canalicules séminifères ou même de la glande. On peut trouver des abcès dans les vésicules séminales ou au niveau de l'épididyme. Ce dernier présente généralement de l'hypertrophie fibreuse, au sein de laquelle on trouve des foyers caséux rappelant les tubercules.

C. — ACCIDENTS SECONDAIRES.

A côté des avortements et des orchites, on peut encore attribuer à la brucella : des hygromas, des collections pu-

rulentes diverses, des arthrites infectieuses aiguës closes qui peuvent prendre, dans certaines étables, une véritable allure contagieuse et atteindre toutes les vaches contaminées. Elles apparaissent, le plus souvent, chez les femelles et après l'avortement, elles se localisent de préférence à l'articulation fémorotibiorotulienne et tibiotarsienne.

Il faut signaler le grand nombre de sujets qui sont infectés par *brucella abortus* et ne présentent aucun trouble, même léger.

Dans ce cas, la présence du microbe n'est signalée que par les diagnostics expérimentaux, en particulier, parmi ceux qui sont basés sur la recherche des modifications homologues, la séroagglutination.

Ces animaux sont cependant capables de disséminer le germe. C'est ainsi qu'on le trouve dans le sperme, le liquide séminal de taureaux sains en apparence, dans les sécrétions vaginales des vaches, après un part normal.

Chez ces dernières, il s'élimine encore d'une façon intermittente par la voie de la mamelle, favorisant souvent l'implantation de différents autres agents pathogènes. C'est ici que se classent toutes les vaches qui, deux ou trois ans, quelquefois plus, après leur infection, ont acquis une résistance suffisante à l'avortement, mais ne sont pas guéries.

Enfin, il ne faut pas perdre de vue l'influence de la maladie des mères, reconnue ou non, sur la vitalité des produits. La fréquence des infections des nouveaux-nés peut, dans une certaine mesure, être comprise dans le cortège symptomatique de la brucellose bovine.

Dans certains cas, seule, leur importance peut faire songer à la contamination possible du troupeau, et être à l'origine du diagnostic.

CONSIDÉRATIONS.

Les avortements, les orchites, les arthrites apparaissant dans un même élevage, les caractères de ces accidents doivent amener le praticien à songer à l'infection par *brucella abortus*.

Malheureusement, ce résultat ne peut être obtenu que dans les étables importantes ; lorsque la plus grosse partie de l'effectif est contaminée et que les ravages de la maladie sont déjà très sérieux.

Les lésions des enveloppes sont intéressantes, quoique non pathognomoniques. Leur recherche est d'une grande utilité, puisqu'elles permettent de reconnaître l'origine infectieuse de l'avortement. Elles engagent à en rechercher l'agent par des procédés plus surs, et ce, avant de mettre en œuvre les moyens curatifs ou prophylactiques quels qu'ils soient.

CONCLUSION.

Le diagnostic clinique reste la base de l'intervention du praticien, mais demande à être complété et souvent aidé, en raison :

1°) de sa lenteur,

2°) de ce fait, qu'il est complètement inopérant vis-à-vis d'une grosse partie des animaux infectés : les porteurs de germes, si dangereux pour les troupeaux et l'homme lui-même.

CHAPITRE III

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

Cette méthode, en principe la moins sujette à critique, est basée sur la mise en évidence de l'agent causal par examen direct, ou après culture.

Après avoir passé en revue les principales matières virulentes, nous examinerons successivement ces deux modalités.

A. — MATIÈRES VIRULENTES.

Nombreux sont les produits susceptibles d'être utilisés comme telles.

Les Sécrétions locales, consécutives à un avortement ou à une mise bas d'apparence normale, chez une vache infectée, contiennent des bacilles pendant une période qui, d'après Fitch, Delez et Boyd, serait de quatre semaines environ.

Passé ce délai, la brucella est généralement disparue, et l'utérus, les complications mises à part, est débarrassé de son infection.

C'est, avec l'exsudat recueilli à la surface des cotylédons malades, le matériel qui renferme l'agent spécifique avec le plus de régularité. Il est généralement rejeté, à cause de

la rareté des éléments microbiens et, surtout, de la fréquence des infections associées.

Les produits de l'expulsion peuvent servir à mettre le germe en évidence.

Sur l'avorton, on a cherché à utiliser les différents tissus, la moelle, les humeurs, le sang, l'exsudat péritonéal qui peut rendre des services et mérite d'être employé.

Les meilleurs résultats ont été donnés par les prélèvements du contenu stomacal. Pour les cultures, Goerther conseille de prélever 100 cc de liquide gastro-intestinal, de centrifuger et d'ensemencer, d'une part le filtrat, d'autre part, le liquide surnageant.

Les enveloppes sont riches en bacilles ; d'après Gruith, l'épithélium du chorion est l'habitat de choix du microbe.

Les eaux fœtales représentent une véritable culture de *Brucella* ; elles sont, malheureusement, souvent difficiles à recueillir dans des conditions satisfaisantes.

Les humeurs des individus infectés sont aussi bacillifères.

Le sang est de plus en plus délaissé pour la mise en évidence du germe. Celui-ci n'y circulant pas en permanence, il ne constitue pas une source suffisamment sûre.

Le lait des vaches infectées renferme souvent la *brucella*.

Chez les femelles ayant avorté, elle apparaît généralement dans le liquide pendant la première semaine qui suit l'accident. La durée de son élimination par cette voie, fort variable, peut aller de quelques jours à plusieurs années.

Chez les vaches qui réagissent à l'épreuve de la séroagglutination, la quantité de bacilles est, en règle générale, faible. Elle ne prend de l'importance que dans les cas excep-

tionnels. Il y a souvent un plus grand nombre de germes chez les vaches ayant avorté, que chez celles qui réagissent seulement. Dans ce dernier cas, l'élimination peut même être nulle.

Chez celles qui ont été prémunies, il y aurait peut-être une diminution de la « sécrétion » du bacille par la mamelle.

Certaines femelles relevant d'avortement peuvent ne présenter aucune infection du lait par *brucella abortus*.

Il est impossible, actuellement, de donner une valeur approximative à cette élimination, ni de lui assigner un pourcentage défini. Elle doit être considérée comme inconstante et liée à des conditions endogènes ou exogènes comme l'ancienneté, les modes et la durée de l'infection, les conditions particulières qu'offre le milieu parasité.

On a cherché, sans grand succès, à s'adresser à d'autres humeurs comme le sperme, le liquide séminal.

Dans les cas d'infection de l'homme, d'après Mac Arthur et Wigmore, l'urine donnerait des cultures du bacille dans de nombreux cas où le sang reste stérile.

B. — MISE EN ÉVIDENCE DIRECTE.

Les matières virulentes peuvent être utilisées pour un examen direct sur frottis coloré.

Dans ce cas, la différenciation est basée sur les caractères morphologiques du germe et sur ses réactions vis-à-vis des divers colorants.

MORPHOLOGIE.

Brucella abortus est un petit microbe, rigoureusement immobile, que l'on trouve le plus souvent associé à des coli ou paracoli.

En culture, comme dans les organismes infectés, il se montre très polymorphe. Il se présente en principe comme un très fin bacille, mesurant de 1 à 2 μ et même 2 μ 5 de longueur, sur 0 μ 5 de largeur avec une ou deux granulations, plus fortement colorées, en son centre. On peut le trouver sous une forme ovalaire ou même rigoureusement ronde.

Quelques-uns de ces éléments s'associent pour former, suivant les circonstances, de courtes chainettes, des amas intra ou extra cellulaires.

Suivant la souche et la provenance, il y aura prédominance de la forme en bâtonnets très courts, à protoplasma formé d'un ou de deux espaces clairs, se parant de granulations plus foncées, ou de celle en bâtonnets allongés et étroits, ressemblant au bacille de Koch. On pourra même ne constater que des formes microcoeciques.

Pour en faire l'examen dans de bonnes conditions, il faut disposer d'un grossissement de 640 diamètres. A 500 diamètres, les différences de morphologie s'effacent, et on a l'impression d'être en présence d'un coccus.

COLORATION.

Brucella abortus ne prend ni le gram, ni le weigert, elle se colore facilement, en particulier par les couleurs d'aniline, la safranine, la fuschine phéniquée, diluée au cinquième, que l'on fait suivre d'un lavage par une solution aqueuse d'acide acétique à 5 p. 100 ; la thionine phéniquée, après fixation par une lessive de soude à 10 p. 100.

CONCLUSION.

Son grand polymorphisme, l'absence d'affinité marquée pour un colorant particulier, le peu de chance que l'on a

de le trouver à l'état pur, dans les produits organiques recueillis au cours ou à la suite d'un avortement, comme en dehors de tout accident, sur les porteurs de germes présumés, ont fait délaissier la mise en évidence directe de ce microbe, méthode peu sûre et délicate.

C. — MISE EN ÉVIDENCE INDIRECTE.

Elle se fait par les cultures, souvent difficiles à obtenir, en raison des conditions particulières que le microbe demande pour se développer.

CONDITIONS ATMOSPHÉRIQUES.

C'est Bang et Stribolt qui, les premiers, partant de produits pathologiques renfermant le bacille à l'état pur, réussissent à le cultiver. Ilsensemencent dans un milieu agar-gélatine, additionné de sérum normal de Bovidé et liquéfié par un chauffage à 45°. Le contenu est homogénéisé, puis refroidi rapidement dans une position verticale pour le solidifier.

Au bout de quatre jours d'étuve à 37, 38°, ils voient apparaître les colonies dans une zone située entre un et deux centimètres au-dessous de la surface. Cette zone correspond aux exigences particulières du microbe.

Deux facteurs paraissent intervenir dans la culture de *brucella abortus* : la tension en oxygène, défavorable à cet agent ; la tension en gaz carbonique, favorable au contraire.

On a cherché à diminuer la proportion d'oxygène du milieu, par des procédés :

1°) chimique, comme celui proposé par Preisz ; l'association de la potasse et de l'acide pyrogallique.

2°) physique, avec Stafseth, qui préconise un vide partiel et obtient d'excellents résultats.

3°) bactériologique, avec Nowack qui place, côte à côte, sous une cloche, les cultures du bacille et des ensemencements d'un microbe à développement rapide, le bacillus subtilis, à raison de 1 cm² de cette culture pour 15 cc d'air.

Pour Huddleson, la tension du gaz carbonique interviendrait seule sur le développement de la brucella.

Les ensemencements dans des récipients clos, où 10 p. 100 d'air ont été remplacés par du gaz carbonique, donnent en 48 heures, au plus, des colonies très importantes. Avec cette méthode, les premiers isolements à partir des produits organiques s'obtiendraient sans difficulté. Le seul fait de sceller un tube apporterait, dans l'atmosphère de celui-ci, des modifications assez importantes pour permettre un bon développement du microbe.

D'après Wilson, les souches fraîches peuvent croître en tubes bouchés au coton et à la paraffine. Il suffit de flamber un peu de coton ; cette opération dégage une quantité suffisante de gaz carbonique.

Après un nombre de repiquage allant de deux à huit, suivant les souches, dans des conditions voisines de l'air atmosphérique, les cultures se développent bien, dans des tubes bouchés ou à l'air libre et sur des milieux très simples.

OBTENTION DES CULTURES.

Pour isoler la brucella de produits impurs il faut avoir recours à des ensemencements en surface qui permettent la séparation des différentes colonies.

Il convient toujours de les placer dans les mêmes conditions favorables.

Dans le but d'entraver le développement des autres agents microbiens, on incorpore quelquefois, au milieu une solution aqueuse de violet de gentiane, en quantité suffisante pour obtenir le teint final de 1 p. 10.000. Cette substance a une action surtout prononcée sur les microbes qui prennent le gram.

ASPECT DES CULTURES.

Sur gélose ordinaire et lors d'un premier isolement, les colonies se développent lentement. Dès le troisième ou quatrième jour, elles se présentent en gouttelettes de rosée véritablement transparentes ; elles se bombent en fines lentilles, puis brunissent en leur centre sans devenir opaques. Le cinquième jour, il apparaît à leur surface, de fins cristaux miroitant, comme des paillettes, au moindre mouvement.

Après plusieurs repiquages, lorsqu'elles poussent vigoureusement, très rapidement, en 24 heures et même moins, il apparaît de fines colonies transparentes à reflets bleuâtres. En s'épaississant, elles se transforment en une couche gris clair, uniforme, luisante et bronzée par transparence. Les cultures sur pommes de terre forment un enduit visqueux, de couleur brun-chocolat, ressemblant à celui donné par le bacille morveux. Les vieilles colonies présentent un aspect semblable, de plus deviennent filantes.

Les jeunes cultures sont fragiles : après 15 jours, le repiquage peut devenir impossible. Pour les anciennes, au contraire, le délai peut atteindre huit mois.

MILIEUX.

Beaucoup de géloses ont été recommandées. Elles donnent, en général, des résultats satisfaisants. Citons celles au bouillon de foie ; au bouillon de rate préconisée par Stafseth ; au lactose, additionnée de 10 p. 100 de sérum normal de bovidé, employée par Evans.

La gélose mixte, au bouillon de muscle de veau et de foie de mouton, glycinée à 5 p. 100, est utilisée par le laboratoire National des Recherches, au ph de 6,4 à 6,8.

Les brucella se développent bien dans le lait sans le coaguler, et faiblement en bouillon. Elles ne donnent pas d'indol, ne liquéfient pas la gélatine, n'attaquent pas les sucres.

CONCLUSION.

Le diagnostic bactériologique est intéressant. Les cultures, contrôlées par l'examen des caractères morphologiques du microbe, constituent le moyen d'identification le plus rationnel. Il peut rendre des services, surtout lorsqu'il importe d'établir un diagnostic précis, en particulier dans la vérification de la transmission de l'infection à l'espèce humaine.

On ne peut, malheureusement, songer à l'appliquer à la recherche des animaux infectés, dans un effectif même réduit, parce que :

1°) Cette méthode ne permet de conclure avec certitude que dans le cas de résultat positif.

2°) Elle exige un matériel et une dextérité qui en limitent l'emploi aux laboratoires bien outillés et aux cas isolés.

CHAPITRE IV

DIAGNOSTIC EXPÉRIMENTAL

C'est certainement le moyen le plus souvent employé. Il le doit au nombre important de procédés qu'il comporte, et à la simplicité, la régularité de certains d'entre eux. Nous envisagerons successivement, dans ce chapitre, les épreuves basées sur la recherche du *microbe* et celle des *modifications humorales*.

I. — RECHERCHE DU MICROBE.

La mise en évidence expérimentale de l'agent causal peut être obtenue en inoculant une certaine quantité de matière virulente, ou supposée telle, à un animal de laboratoire. Généralement on s'adresse au cobaye qui est sensible aux brucella.

On peut partir des différents produits organiques examinés dans le précédent chapitre. Nous ne reviendrons pas sur la valeur comparée de chacun d'eux. Nous traiterons seulement à part les inoculations de lait.

1° — INOCULATIONS DIVERSES.

On y a recours lorsque l'on ne dispose que de produits ne renfermant pas le microbe à l'état pur, ou en quantité suffisante pour fournir une culture.

La quantité de matière virulente à injecter est variable avec sa nature et sa provenance. Elle est cependant généralement de l'ordre de quelques centimètres cubes.

On peut s'adresser aux voies intramusculaire, sous-cutanée, ou intra-péritonéale. Pour Nelson, ce dernier mode d'inoculation serait le meilleur ; il provoquerait la stérilisation partielle des germes associés.

Le cobaye succombe à la maladie au bout de quatre mois, souvent plus. L'évolution de l'infection est très lente. Au bout de deux à trois mois seulement, on peut noter des lésions intéressantes. Elles siègent au niveau de la rate qui est hypertrophiée, bosselée ; du foie, qui présente des déformations, des lésions ondulaires, des tubercules. On note encore de la pneumonie, des hypertrophies ganglionnaires, des arthrites, des orchites, etc...

Le microbe peut généralement être retrouvé dans la rate et isolé de ses lésions. D'après Smillie, il serait encore possible de trouver la brucella dans cet organe et même dans les autres, en dehors de toute altération visible, et ce dès la troisième semaine après l'inoculation.

Il est bon, lorsque l'on a recours à cette méthode, de la compléter par desensemencements nombreux placés dans les conditions requises par le microbe ; par la recherche hâtive, chez le sujet d'expérience, des modifications humorales et surtout sériques.

2° — LACTO-INOCULATIONS.

En dehors de l'agglutination, applicable au lait, et que nous verrons plus loin, il existe un autre moyen de décélérer l'infection brucellique, en partant de ce liquide. C'est une inoculation au cobaye.

Elle a été employée par Schwartz, Proscholdt, qui en ont précisé la technique, puis par Schroeder, Cotton, Evans, etc... pour la recherche de l'élimination du microbe par la glande mammaire.

On nettoie sérieusement la mamelle et surtout les trayons, puis on prélève une quantité égale de lait dans chacun des quartiers. On se sert pour cela d'un tube de verre de 100 cc environ, stérile et assez épais pour résister aux manipulations. On le soumet à une centrifugation mécanique de 3.000 tours pendant 15 à 20 minutes. La crème se rassemble à la partie supérieure en une couche de 1 cm à 1 cm 1/2, formant approximativement la 25^e partie du liquide total. Au fond, on trouve un dépôt, le culot de centrifugation, dont l'importance varie beaucoup avec l'animal et la propreté du lait.

Au moyen d'une petite spatule, préalablement stérilisée, on soulève la couche de crème pour vider le petit lait qui occupe toute la partie moyenne du tube. On la mélange ensuite au culot de centrifugation, en ajoutant, pour homogénéiser le tout, un peu de sérum physiologique ; les bacilles étant rassemblés dans ces deux parties, surtout dans la première.

Le produit est ensuite inoculé au cobaye en intrapéritonéale, intramusculaire ou simplement sous-cutanée, à la dose de 1 cc ou 1 cc 1/2. Il est prudent d'injecter le même matériel à plusieurs sujets, car la réaction est souvent violente et peut amener rapidement la mort.

Les lésions sont semblables à celles décrites plus haut. Elles n'apparaissent qu'au bout de 2 mois à 2 mois 1/2 ; elles portent sur la rate et le foie. On note en plus des in-

filtrations œdémateuses du tissu conjonctif sous-cutané et des tendons, des ilots de pneumonie, de pleurésie.

D'après Schwartz et Swen Wall, l'examen du sérum des cobayes effectué au bout de 4 à 6 semaines, en prélevant 3 à 4 cc de sang directement dans le cœur, donnerait des indications excellentes.

Schwartz, en 1929, a déclaré avoir obtenu par ce procédé des résultats tout à fait satisfaisants. Il a signalé en particulier avoir décélé l'infection d'une vache dont le lait avait été mélangé à celui de 50 autres femelles saines.

CONCLUSION.

Les gros inconvénients de ces méthodes, outre le temps qu'elles demandent, sont : l'intermittence de l'élimination brucelique ; la lenteur de l'évolution de l'infection chez le cobaye, qui laisse une grande place à la mortalité par d'autres causes ; le peu de résistance de l'animal. On peut diminuer ce dernier écueil en multipliant le nombre de sujets inoculés, en complétant l'opération par des ensemencements et la recherche précoce des modifications humorales. Il n'en restera pas moins que les produits qui sont à la base de ces procédés contiennent le germe avec une grande irrégularité et, qu'en particulier, la lactoinoculation ne pourra jamais déceler qu'à l'émission de bacilles par la mamelle.

Les inoculations sont inapplicables au diagnostic de la brucellose bovine.

II. — RECHERCHE DES MODIFICATIONS HUMORALES.

1° — MODIFICATIONS HUMORALES.

Les microbes, comme les cellules et les humeurs, ferment, en proportions variables, certains constituants

protéiques de nature colloïdale, appelés antigènes par Dètre Deutsch, qui provoquent, chez les animaux auxquels ils sont injectés, la formation de substances antagonistes ou anticorps spécifiques.

Chaque espèce microbienne en possède plusieurs sortes qui, selon Mlle Raphaël, forment une véritable « mosaïque d'antigènes ». Chacun de ceux-ci est spécifique. L'ensemble l'est également, par coexistence constante de certains d'entre eux.

Un antigène « domine » habituellement et engendre un anticorps également dominant. Les altérations d'origine physique (chaleur, froid, etc...) affectent les propriétés antigènes accessoires et laissent intactes les propriétés dominantes. Ceci s'applique aussi aux anticorps.

Anticorps.

Inconnues dans leur nature et uniquement décélées par les réactions qu'elles provoquent, les substances dénommées anticorps se forment dans les humeurs au cours de l'infection ou sous l'influence d'injections d'antigènes. Elles n'ont jamais pu être isolées. Quelques savants ont nié leur existence et attribué leurs manifestations à des modifications purement physiques des liquides organiques colloïdaux ; mais les phénomènes qu'elles provoquent « in vivo » et « in vitro » sont tels, leurs caractères sont si précis, qu'il convient, jusqu'à plus ample informé, de leur conserver cette appellation.

Les anticorps sont surtout abondants dans le sérum sanguin, où ils paraissent liés à la fraction globuline. Ils résistent à 55° et ne s'altèrent que très lentement, sous l'influence du vieillissement.

Nicolle, Boquet, Cesari, Jouan, distinguent les anticorps des cellules, qui comprennent les agglutinines et les lisines ; les anticorps des humeurs qui renferment les précipitines et les sensibilisatrices ; enfin, les anticorps des toxines ou antitoxines.

Ces derniers sont liés à l'immunité et présentent un caractère défensif.

Les autres, au contraire, dépendent de l'infection et n'exercent aucune action protectrice. Ils apparaissent comme les témoins d'une réaction de défense de l'organisme.

Les procédés de diagnostic que nous allons envisager sont basés sur la recherche des principales d'entre elles, à savoir : précipitines, sensibilisatrices, agglutinines.

Après une simple numération de quelques méthodes peu employées, nous exposerons sans détails la déviation du complément. Nous terminerons par une étude plus complète de la réaction couramment utilisée pour la recherche de la Brucellose bovine : l'agglutination. Nous envisagerons successivement : son principe, sa mise en œuvre et ses applications.

2° — RÉACTIONS SECONDAIRES.

a) *Réaction d'Abderhalden.*

Cette réaction, encore peu utilisée, est basée sur la recherche des ferments protéolytiques spéciaux ou ferments destructeurs d'albumines spéciales.

A chaque variété d'albuminoïde correspond un ferment particulier que la méthode peut mettre en évidence, dans certains états pathologiques ou physiologiques tels que la gestation.

Kortz a appliqué cette méthode à la maladie qui nous inté-

resse. Par dialyse, il révèle la présence dans le sérum des animaux infectés, du ferment qui décompose les protéines de brucella abortus. La technique de cette réaction est complexe et sort du domaine courant des laboratoires.

b) *Mise en évidence de l'antigène.*

Réaction de Holth.

C'est en réalité une réaction de fixation du complément effectuée avec une solution physiologique de lambeaux ou d'exsudats cotylédonnaires.

La solution est filtrée et mise en contact avec le sérum abortif. Ce dernier, s'il y a infection, apporte la sensibilisatrice et l'alexine. Si, après addition de globules rouges et d'hémolysine, les globules ne sont pas détruits, c'est que la sensibilisatrice avait été fixée.

Il y a lieu de conclure à la présence d'antigène abortif.

Réaction de Thomsen et Holth.

Elle consiste à injecter la solution physiologique préparée de la façon indiquée au-dessus, dans les veines d'un lapin. Cela provoque la formation de substances spécifiques dont les propriétés fixatrices et lytiques vis-à-vis des germes correspondants sont en tous points comparables à celles de la sensibilisatrice de Bordet.

Après 7 à 10 jours, on recherche les sensibilisatrices ou même les agglutinines.

c) *Réaction de précipitation.*

On recherche ici les précipitines, substances qui agissent de la même façon sur les micelles albuminoïdes, que les agglutinines sur les microbes. Comme ces dernières, elles sont spécifiques, ne sont détruites qu'à 70° et manifestent leur activité même en l'absence d'alexine.

Pour les mettre en évidence, on peut s'adresser à un antigène spécifique. C'est le principe de la réaction d'Ascoli. En l'occurrence, on pourrait prendre un extrait microbien, par exemple « l'Abortine », dont nous parlerons plus loin, de même que pour la morve Panisset et Miessner ont eu recours à la malléine.

On peut au contraire employer un antigène non spécifique. On agit de la sorte dans la réaction de floculation de Meinel, la réaction de Fulton ou la réaction de Sachs et Georgi. Celle-ci est surtout employée pour reconnaître la syphilis ; elle s'effectue avec des extraits d'organes simples, additionnés de cholestérine.

3° — RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT OU DE FIXATION DE L'ALEXINE.

C'est la recherche dans le sang des sujets suspects de la sensibilisatrice de Bordet ou ambocepteur d'Ehrlich.

a) *Sensibilisatrices.*

Ce sont des anticorps qui peuvent fournir de très utiles indications pour le diagnostic de nombreuses maladies. Aussi leur étude a-t-elle pris une grande extension.

Pfeiffer, en 1894, a démontré le premier leur existence, par une expérience devenue classique, avec un cobaye vacciné contre le choléra et du vibron cholérique.

Bordet et Gengou en 1898, puis Ehrlich et Morgenroth en 1899 ont expliqué cette expérience. Dans le sérum du cobaye vacciné contre le choléra, il existe deux substances ayant des propriétés différentes :

L'une se trouve dans tous les sérums normaux d'homme ou d'animal ; elle est thermolabile, c'est-à-dire détruite par un chauffage de 30 minutes à 55°, c'est :

L'alexine pour Buchner, le complément pour Ehrlich, la cytase pour Metchnikoff.

L'autre est spécifique, elle se fixe sur l'antigène qui a provoqué sa formation, le « sensibilise », pour permettre à l'alexine de le détruire ; cette substance est thermostable : elle résiste au chauffage à 55°, c'est :

La sensibilisatrice de Bordet, ou le fixateur de Metchnikoff.

Dans l'expérience de Pfeiffer, il y a destruction du vibron cholérique, lysé par l'action combinée de la sensibilisatrice et de l'alexine : il y a bactériolyse. Si au lieu de microbes, l'antigène est constitué par des globules rouges, l'action lytique que l'on ne peut dans le cas précédent qu'observer au microscope et difficilement, se manifeste par la mise en liberté de l'hémoglobine : il y a hémolyse. Cette réaction est facilement appréciable. Mais pour obtenir la destruction des hématies, il faut leur opposer un sérum renfermant une sensibilisatrice active pour elles.

C'est dans le but de faciliter la lecture du résultat que Bordet et Gengon, en 1901, combinèrent la bactériolyse et l'hémolyse, réalisant la réaction de fixation de l'alexine ou de déviation du complément.

C'est Holth, en 1909, qui, le premier, a appliqué la réaction de fixation au diagnostic de la Brucellose bovine en partant de cultures de la brucella. Après lui, la Commission anglaise, puis de nombreux auteurs ont utilisé ce procédé, souvent avec un antigène différent. Zwick et Zeller emploient des extraits aqueux de placenta de vaches infectées. Gwatkin utilise un filtrat, sur bougie Berkefeld, de culture de 10 jours, en bouillon peptoné, de sept souches d'abortus. Il l'additionne de 0,5 p. 100 de phénol.

Marcis en 1925, Mac Thime et Rettger en 1926, ont trouvé des sensibilisatrices dans le lait de vaches infectées. On peut les rechercher dans ce liquide, mais il faut le neutraliser au bicarbonate de soude, pour éviter les erreurs dues à l'action anticomplémentaire de l'acide lactique.

b) *Principe de la Réaction.*

Dans un premier temps, on met en présence les éléments d'un système bactériolytique :

- 1°) sérum du sujet suspect chauffé à 56° (conservation de la sensibilisatrice si elle existe, disparition de l'alexine).
- 2°) antigène correspondant.
- 3°) sérum normal de cobaye (apport d'alexine neuve en quantité connue).

On porte le tout à l'étuve à 37° pendant une heure.

Dans un deuxième temps, on ajoute au mélange :

- 1°) des hématies de mouton,
- 2°) du sérum de lapin antimouton, chauffé à 56° (il contient la sensibilisatrice spéciale aux globules rouges de mouton et est privé d'alexine).

On laisse ensuite le tout à l'étuve à 37° pendant deux heures.

Deux cas peuvent se produire :

L'animal est infecté :

La sensibilisatrice spécifique de brucella abortus existe dans son sérum. Pendant le premier temps, elle se fixe sur l'antigène de ce même microbe, le sensibilise. L'alexine peut dès lors être absorbée par ce complexe : il y a bactériolyse. Dans la deuxième phase, la sensibilisatrice du sérum antimouton agit bien spécifiquement sur les hématies, mais il n'y a plus d'alexine : il ne peut y avoir hémolyse.

Les globules rouges intacts se déposent au fond du tube ; le résultat est positif.

L'animal n'est pas infecté :

L'antigène brucella ne trouve pas sa sensibilisatrice spécifique, que le sérum de l'animal sain n'a pas apporté. Il ne peut être attaqué par l'alexine qui reste libre. Il n'y a pas bactériolyse.

Les hématies toujours sensibilisées par l'apport du sérum de lapin antimouton sont attaquées par l'alexine qui n'a pas été « fixée » au premier temps de l'opération.

Les globules sont détruits : il y a hémolyse. La réaction est négative.

c) *Matériel.*

Pour réaliser cette épreuve, il faut :

1°) *des globules rouges de mouton.* On les isole par de multiples lavages, à l'eau physiologique, de sang défibriné. Ils ne doivent présenter la moindre hémolyse dans ce liquide.

2°) *du sérum antimouton.* On l'obtient en injectant une émulsion physiologique d'hématies de cet animal, à 8 ou 10 reprises sous la peau d'un lapin.

3°) *de l'antigène.* Sa composition est variable. Il est le plus souvent à base de cultures microbiennes ou d'extraits d'organes d'animaux infectés.

4°) *du sérum du sujet suspect.* On le tire par centrifugation de 100 cc du sang recueillis par ponction veineuse. Il doit être chauffé à 56° pendant au moins 20 minutes.

5°) *de l'alexine.* On la trouve dans le sérum normal de cobaye, frais ou conservé par le froid.

Pour assurer à la réaction toute sa valeur, il est néces-

saire de titrer la plupart des éléments énumérés ci-dessus. Par exemple, il est certain que si on apporte une quantité trop grande d'alexine, elle ne sera pas complètement fixée par le complexe antigène-sensibilisatrice de la brucella. Il pourra y avoir hémolyse en même temps que bactériolyse. Le résultat sera faussé.

d) *Valeur.*

La mise en œuvre de cette réaction exige une préparation longue et minutieuse ; un opérateur averti et consciencieux. Le matériel qu'elle nécessite est important. Il faut opérer avec de nombreux tubes témoins. Elle demande beaucoup de temps et ne peut être effectuée en série.

Dès son apparition, on a cherché à se rendre compte de sa valeur. Thomsen, Mac Fadyean, Huddleson, l'ont comparée à l'agglutination et ont obtenu des résultats concordants.

Lentz et Miessner ont trouvé que la déviation donnait des résultats positifs là où l'agglutination ne révélait rien.

Il ne paraît pas, malgré son adoption par quelques auteurs, dont Mohler, Traum, Gwatkin, qu'elle puisse remplacer la réaction beaucoup plus simple de l'agglutination.

Elle peut, cependant, lui être associée pour préciser les résultats douteux, sur lesquels il importe particulièrement de se faire une opinion.

4° — RÉACTION D'AGGLUTINATION.

a) *Agglutinines.*

Découvertes par Charrin et Roger, dans des cultures de bacille pyocyannique, en présence d'immunsérum analogue, elles se rencontrent dans un grand nombre de sérums anti. Elles apparaissent dans de nombreuses maladies infectieuses.

L'agglutination s'effectue à basse température et se montre seulement un peu plus rapide à 37°. Les agglutinines, auxquelles on l'attribue, résistent au chauffage à 56-60°. Elles ne dialysent pas et n'agissent qu'en présence d'électrolytes. D'après Bordet et Joas, les acides et surtout les alcalis les détruisent. Le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation les précipite du sérum avec les globulines sur lesquelles elles seraient fixées. Les gommés, la gélatine s'opposent à leur réaction.

Expérimentalement, elles apparaissent dans le sérum trois ou quatre jours après l'injection des microbes, vivants ou morts. Elles atteignent leur maximum vers le dixième ou douzième jour et persistent très longtemps, quelquefois plusieurs années.

On les trouve non seulement dans le sang, mais encore dans le lymphé, les liquides d'œdème, les épanchements des séreuses, les bulles de vésicatoire, le lait, etc...

Bien que les agglutinines soient spécifiques, le sérum d'un animal infecté par une seule espèce microbienne agglutine parfois des microbes appartenant à une espèce voisine. Il y a une coagglutination.

b) *Principe de la réaction.*

Bordet le présente comme suit : « Lorsqu'on ajoute une trace de sérum anticholérique frais ou privé d'alexine, par chauffage pendant une demi-heure à 55°, à une émulsion de vibrions cholériques, dans l'eau physiologique, les microbes s'immobilisent immédiatement, puis, sans perdre leur vitalité, s'agglomèrent, s'agglutinent en petits amas visibles à l'œil nu. Le sérum d'animaux immunisés contre d'autres germes que le vibron cholérique ne produit aucun effet ».

« In vitro », selon ce même auteur, l'agglutination des microbes se produit en deux temps :

1°) Fixation de l'anticorps sur l'antigène et formation d'un complexe.

2°) Accolement par les électrolytes du milieu et réunion en amas des éléments chargés d'anticorps.

Les conditions d'équilibre avec le milieu du complexe antigène-anticorps diffèrent de celles de l'antigène normal. Il en résulte qu'au contact des électrolytes ajoutés en proportions variables, les éléments se rapprochent, s'accolent les uns aux autres, s'agglutinent et forment des amas de volume croissant.

En fait, l'agglutination est le produit de deux facteurs : les propriétés agglutinantes des sérums et l'agglutinabilité des cellules.

L'action agglomérante varie considérablement avec la nature et la dose de l'antigène, la concentration de l'anticorps, le temps de contact, la température, le ph du milieu. L'agglutinabilité diffère, souvent, avec les races d'une même espèce microbienne.

D'après Widal, les germes morts se montreraient aussi agglutinables et agglutinogènes que les microbes vivants.

c) Application du principe.

C'est Wright qui, le premier, en 1897, utilisa pour le diagnostic, les propriétés agglutinantes du sérum des sujets atteints de fièvre ondulante.

Sa méthode, après avoir été bien accueillie, fut rapidement délaissée : la technique était mal définie et on n'y avait pas confiance. Il fallut attendre 1923 et la mise au point de la réaction pour qu'elle fut de nouveau employée.

Pour la brucellose bovine, le procédé a subi des vicissitudes analogues ; préconisée par Holt, elle est rejetée par la Commission anglaise en 1909. Elle est réhabilitée par Brull en 1911. Depuis lors, la technique a subi différentes modifications ; de nombreux auteurs se sont efforcés de rendre pratique le diagnostic de Wright.

d) *Source des anticorps.*

Cette épreuve est souvent effectuée en partant du sérum de l'animal suspect. Les agglutinines sont décelables de 6 à 21 jours, selon Mac Fadyeau, après l'infection.

La pratique a montré que le meilleur moment pour les rechercher allait du 12 au 15^e jour après l'avortement ou l'accouchement de la femelle.

Ces événements paraissent provoquer le passage dans l'organisme des microbes jusque là cantonnés dans l'utérus, et agir comme une infection expérimentale.

La réaction positive se maintient en général au moins quatre mois. Selon Seddon, elle peut cependant disparaître plus tôt dans 10 p. 100 des cas.

Le sang est prélevé aseptiquement dans la jugulaire. Il est avantageux de le recueillir dans des tubes épais, permettant dès l'arrivée au laboratoire une centrifugation sans manipulation.

Le sérum collecté est inactivé par un chauffage de 30 à 60 minutes à 55-56°. L'opération peut avoir lieu en présence du caillot ; la décantation n'est pas nécessaire. Tout sérum hémolysé doit être rejeté, car il fournirait des précipités simulant une agglutination.

On peut s'adresser à d'autres humeurs, notamment au lait.

Dès 1909, M. Fadyean et Stockmann avaient démontré les propriétés agglutinantes de ce liquide vis-à-vis de *brucella abortus*.

La lactoagglutination fut surtout utilisée en Amérique.

Seddon la conseillait pour les grands troupeaux où la récolte du sérum est fastidieuse. Cet auteur coagule le lait par une trace de solution alcoolique de présure, de façon à obtenir le lactosérum. Celui-ci n'a pas l'opacité du lait ; il permet une observation plus facile de la réaction. On peut aussi se contenter d'une dilution très poussée du produit total de la traite.

Selon Stockmann, la réaction peut être considérée comme positive aux taux de $1/25$ ou $1/20$.

Dans ce procédé, on rencontre de nombreuses variations du taux d'agglutination, selon le quartier qui a fourni le lait, le moment de la traite, l'époque de la lactation, l'abondance de la sécrétion.

Les réactions obtenues ne concordent pas toujours avec celles du sérum. Cooledge, après inoculation de bacilles dans un quartier, y trouve des agglutinines au bout de 24 heures. Elles n'apparaissent que plus tard dans les autres parties de la mamelle.

Dans un essai d'infection par le trayon, Schweder observe que le pouvoir agglutinant de la partie infectée est nettement supérieur à celui des autres.

L'apparition des anticorps dans le lait semble donc dépendre, non seulement de l'infection de l'animal, mais aussi et surtout de celle de la glande mammaire.

Aux variations, citées plus haut, du taux des agglutinines, se superpose donc l'inconstance de l'élimination des bacilles par la mamelle.

La lactoagglutination, comme tout lactodiagnostic, peut rendre des services pour le contrôle du lait, mais ne mérite pas de supplanter les procédés sériques pour le diagnostic de l'infection.

e) *Techniques d'agglutination.*

Nous allons exposer successivement :

La méthode lente de Wright qui est la plus employée et sert de base de comparaison.

La méthode rapide macroscopique imaginée et utilisée par les Américains.

La méthode rapide microscopique analogue à celle préconisée par Widal, pour le diagnostic de la fièvre typhoïde.

Les procédés dérivés : l'abortoscope de Bevan et l'hémoagglutination.

Sero-Agglutination lente

C'est le procédé employé avec succès depuis sa création par le service des diagnostics du Laboratoire National des Recherches.

PRÉPARATION DE L'ANTIGÈNE.

L'antigène est constitué par une émulsion de brucella dans l'eau physiologique. On l'utilise à une dilution telle que l'on ait un trouble nettement perceptible. Elle correspond à environ 100 mmgr de bacilles par litre.

Les brucella sont cultivées dans des boîtes de Roux, sur de la gélose mixte au bouillon de veau et de foie, glycinée à 5 %. Ses cultures sont récoltées après quatre jours d'étuve à 37°. L'émulsion est additionnée de traces de chloroforme

ou de phénol à 5/1000 et conservée à 0°. Elle reste stable et utilisable pendant un mois.

MODE OPÉRATOIRE.

L'épreuve a lieu dans des petits tubes spéciaux au taux de :

1	1	1	1	1	1
33	50	100	333	500	1.000

En outre du matériel déjà énuméré, il faut encore :

1 pipette de 1 cc graduée en 1/20 de cc

1 seringue graduée de 5 cc.

Les tubes placés en série sur des supports reçoivent, selon leur rang, pour atteindre le taux désiré : 3, 2 ou 1/20 de cc de sérum, soit pur, soit dilué au 1/10. Avec la seringue on ajoute ensuite 5 cc. d'émulsion antigène.

Le tableau suivant schématise l'opération :

N° du tube :	1	2	3	4	5	6
sérum pur :	3/20 cc	2/20 cc	1/20 cc			
sérum dilué :				3/20 cc	2/20 cc	1/20 cc
émulsion :	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc
taux de la dilution :	1/33	1/50	1/100	1/333	1/500	1/1000

Pour l'ensemble de l'opération, on ajoute comme témoins quelques tubes de l'émulsion pure renfermant 5 cc d'émulsion et 3/20 de sérum normal chauffé à 56°.

On place le tout à l'étuve à 37° de préférence dans un récipient renfermant une petite quantité d'une solution de formol. On les laisse 24 heures, puis on procède à la lecture.

Lorsque l'agglutination a eu lieu, le liquide est clair et un dépôt blanchâtre est adhérent au fond du tube.

Toute agglutination totale à 1/50 doit être interprétée comme positive. Une agglutination partielle à ce taux, ou à 1/30, implique une suspicion.

Les réactions les plus communes sont entre 1/50 et 1/1000. En pratique, il y a lieu de ne considérer comme positifs que les résultats compris entre ces limites, à cause du phénomène d'agglutination paradoxale qui fait agglutiner aux taux inférieurs le sérum de certains animaux sains.

Seroagglutination

Macroscopique rapide

En 1922 et 1923, Gwatkin décrit un procédé de séro-agglutination macroscopique rapide sur verre qui, malgré son imprécision, a le mérite de démontrer la possibilité d'un tel diagnostic.

En 1925, Kahn expose une méthode rapide pour la recherche sérologique de la syphilis chez l'homme et ouvre le champ aux investigations de ce genre.

En 1926, Huddleson et Carlson publient, pour la brucellose bovine, un procédé de sérodiagnostic rapide qui emploie des dilutions correspondantes à celles de la réaction lente de Wright.

En 1928, Huddleson, en collaboration avec Elisabeth Abell, complète et rectifie cette méthode. Il augmente la concentration de l'antigène, ce qui, d'après lui, atténuerait la sensibilité exagérée de ce réactif, cause importante de discordance avec l'agglutination lente. Il étudie en outre l'influence d'un bon nombre de corps, à des concentrations variables, sur le phénomène d'agglutination. Il publie la technique de préparation de l'antigène qui lui a donné le plus de satisfaction.

Cette réaction a surtout été employée aux Etats-Unis où de nombreux laboratoires délivrent aujourd'hui, aux praticiens, le matériel complet demandé pour sa mise en œuvre.

Disposés à nous rendre compte des modalités de son exécution et des services qu'elle aurait pu rendre à la profession, nous avons tenté, sans succès, de nous procurer

ce matériel du commerce. Nous avons dû le rassembler par nos propres moyens en nous efforçant de tirer le meilleur parti des détails donnés par Huddleson et de l'appréciation de divers auteurs.

PRÉPARATION DE L'ANTIGÈNE.

Une souche de *brucella abortus* d'agglutinabilité connue et utilisée pour la préparation des antigènes de la séro-agglutination lente, par le Laboratoire National des Recherches, estensemencée sur gélose mixte, au bouillon de muscle de veau et de foie de mouton, glycérinée à 5 %. On a recours aux boîtes de Roux qui fournissent une culture abondante. Le milieu est amené à un Ph de 6,8 et laissé à 37° pendant trois jours au moins.

Au bout de ce temps on procède à la récolte de la couche microbienne à l'aide d'une solution de chlorure de sodium à 12 % à laquelle on ajoute 0,5 % de phénol. Il faut avoir soin de n'employer que le liquide juste nécessaire pour enlever complètement la pellicule microbienne, afin d'en obtenir une suspension aussi concentrée que possible. L'opération est longue à cause de cette nécessité et de la concentration saline élevée du liquide. Il faut environ deux heures de contact pour séparer complètement la culture du milieu. Pendant ce temps il n'est pas inutile de remuer les boîtes, sans brusquerie, à plusieurs reprises. La suspension obtenue est filtrée sur une mince couche de coton hydrophile qui retient les débris de gélose, détachés du milieu par macération, et toutes les autres parcelles hétéroclites.

Les auteurs conseillent d'ajouter du violet de gentiane à raison de 0,1 cc. d'une solution saturée à 100 cc d'émulsion. Ceci aurait pour effet de prévenir le développement ulté-

rieur des cocci ou bacilles non spécifiques, apportés par les manipulations et dont le développement n'est pas entravé par le phénol ; en particulier de ceux qui prennent le gram.

On chauffe alors dans un récipient découvert de façon à obtenir une ébullition modérée de 10 minutes environ. Cette opération provoque la coagulation de certaines substances organiques et par là accroît considérablement la sensibilité de l'antigène aux seules agglutinines spécifiques ; on filtre ensuite à nouveau sur une couche peu épaisse de coton hydrophile destinée à retenir les matières coagulées.

Le filtrat est refroidi rapidement, puis ajusté à un Ph de 6,8 par la méthode colorimétrique. Il ne reste plus qu'à l'amener à la concentration voulue par l'opération que les auteurs appellent « standardisation ».

« STANDARDISATION » DE L'ANTIGÈNE.

On dispose de cinq petits tubes, du modèle couramment employé pour les réactions sérologiques ; on y met à l'aide d'une pipette graduée, 0,5 cc d'antigène, on ajoute dans chacun d'eux, l'une des quantités de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 cc. de solution salée et phénolée qui a servi à émulsionner les cultures. On mélange soigneusement par agitation. Ces dilutions servent à déterminer à quelle concentration l'antigène sera employé : on peut les pousser plus loin si cela paraît nécessaire.

L'émulsion originelle et les différentes quantités diluées sont successivement essayées sur trois sérums dont les titres d'agglutination ont été déterminés par l'épreuve macroscopique lente. Ces échantillons doivent être convenablement choisis : on prend de préférence un négatif et

deux positifs ; l'un au taux de 1/50, l'autre à 1/500 et au-dessus. Ces essais sont conduits de la même façon que le diagnostic d'un sérum quelconque. Sa technique en sera exposée plus loin. On adopte la concentration qui donne les résultats les plus voisins de ceux des épreuves d'agglutination lente.

La totalité de l'antigène est alors diluée dans les mêmes proportions.

MATÉRIEL.

Tenant compte des modifications apportées par différents auteurs au matériel décrit par Huddleson, nous avons employé :

a) Une plaque rectangulaire, en verre à vitre double, sur laquelle ont été tracés, au diamant, des carrés de 2 cm 5 de côté. Ceux-ci, au nombre de 50, se présentent en rangées de 5 dans le sens de la largeur.

b) Une boîte dont les dimensions proportionnées à celles de la lame de verre sont de 30 cm en longueur pour 20 cm en largeur, la hauteur étant sans importance. Le bord supérieur des parois latérales est muni d'une rainure destinée à recevoir la plaque. Le fond de la boîte est peint en noir.

L'éclairage peut être obtenu par des lampes situées sur le devant de la boîte, dominant la lame de verre et placées à l'intérieur d'un genre de rampe peinte en blanc, qui a pour effet d'abord d'augmenter l'intensité de la lumière, ensuite de soustraire l'opérateur aux rayons lumineux. Il semble préférable de les placer simplement à l'intérieur de la boîte, au-dessous de la lame, comme le conseille Gwatkin. Nous avons successivement employé le premier

puis le second procédé. Celui-ci permet, en plaçant une lampe à chaque coin du rectangle, d'obtenir une meilleure répartition de l'éclairage.

Il faut éviter d'utiliser un éclairage intense qui constituerait une source de chaleur trop importante, à moins que l'on ne dispose d'un procédé permettant de tourner à volonté les rayons vers la plaque.

c) Une pipette compte-gouttes délivrant approximativement 0,03 cc. d'antigène, ce qui correspond à un débit de 33 gouttes par cm³. Etant donnée la composition de l'antigène, la pipette compte-gouttes au 1/20 du commerce, rempli, à peu près, ces conditions.

Il importe d'ailleurs peu qu'elle délivre une goutte ayant un centième de cm³ en plus ou en moins, pourvu que l'on utilise toujours pour les épreuves une pipette rigoureusement identique à celle qui a servi à titrer l'antigène.

d) Une pipette graduée destinée à mesurer les différentes quantités de sérum.

C'est la pièce la plus délicate. Elle doit être rigoureusement exacte et munie à sa partie supérieure d'une boule qui en rend le maniement plus facile, vues les faibles dimensions de son canal, motivées par la valeur minime des quantités qu'elle doit délivrer. Huddleson l'emploie avec les graduations de 0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.004 cc. Nous avons adopté celles de 0.06, 0.03, 0.02, 0.01, 0.006 cc.

Avec un titrage convenable de l'antigène ces quantités nous donnent les taux de dilution de

$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{500}$
----------------	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------

qui sont aisément comparables avec ceux de l'agglutination lente du service des diagnostics du Laboratoire National des Recherches, à savoir :

<u>1</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>1</u>
33	50	100	330	500	1000

On peut dans cette réaction employer des quantités de sérum variables pourvu que l'on reste dans l'ordre de grandeur voulu et que l'on respecte la valeur relative à employer pour chaque taux. Mais plus on emploie de sérum, plus l'antigène doit être concentré ou plus il faut en mettre. Dans ce cas, la limite est rapidement atteinte, ce qui explique la valeur infime des quantités préconisées. C'est ainsi qu'avec notre graduation il n'était pas possible d'obtenir la dilution de 1/30, à cause du volume trop important du mélange qui s'étend et déborde le carré qui lui est réservé.

Nous n'avons pu non plus aller jusqu'au taux de 1/1000 à cause de la difficulté de mesurer 0,cc 003 de sérum.

CONDUITE DE L'ÉPREUVE.

Le sérum est obtenu de la même façon que pour l'agglutination lente. Il doit être de même chauffé à 56° pendant 30 minutes.

La quantité nécessaire est ici très faible ; aussi peut-il être laissé avec le caillot dans le tube d'origine. Il est cependant préférable de l'en séparer avant de commencer la réaction.

1^{er} Temps.

Le sérum est prélevé dans la pipette graduée, il doit remplir une bonne partie de la boule afin que l'opérateur

ait le temps d'en amener le niveau à l'origine des graduations, au zéro de l'instrument. Ceci fait, pour éviter toute erreur, il y a lieu d'enlever alors la goutte en formation au bout de la pipette. Si l'on n'agissait pas de la sorte, on s'exposerait à mettre dans le premier carré une quantité de sérum au moins double de celle que l'on y destine. Pour cela on peut se servir d'un papier buvard, mais il faut avoir soin d'absorber la goutte avant que la colonne n'ait atteint le zéro. Si on commence trop tard, l'absorption la fait brusquement tomber en dessous et tout est à recommencer. Avec l'habitude on arrive rapidement à amener le sérum à la hauteur voulue.

Les lampes de l'appareil étant éteintes ou tournées du côté opposé, si un dispositif le permet, on dépose le sérum sur cinq des carrés de la plaque, on utilise une même ligne dans le sens de la largeur, en plaçant au bout, plus près de la lumière, les quantités les moins importantes. Il faut avoir soin de toucher la lame de verre avec la pointe de la pipette, afin de laisser sur le carré tout le sérum que l'on y destine et éviter les erreurs.

Lorsque les cinq quantités ont été placées, on rince la pipette, à plusieurs reprises, très soigneusement, et on recommence avec l'échantillon suivant.

Nous avons limité le nombre des rangées à dix, alors que les auteurs américains en mettent jusqu'à vingt-six, nous croyons qu'il vaut même mieux ne soumettre à l'épreuve que cinq ou six échantillons à la fois, laissant ainsi une rangée de carrés libres entre chacune de celles que l'on utilise.

2^e Temps.

On ajoute ensuite à chaque quantité de sérum une

goutte de 0.03 d'antigène. Il paraît utile, pour avoir un moyen de comparaison d'en déposer également une ou deux dans chaque ligne non occupée.

Dans cette partie de l'opération, il est indispensable de tenir la pipette rigoureusement verticale et de ne pas toucher la plaque. La goutte doit tomber de quelques centimètres sur la lame de verre, sans l'aide d'aucune secousse.

3° Temps.

Il faut mélanger intimement l'antigène et le sérum, en évitant cependant d'étendre outre mesure le liquide. A cet effet, les auteurs américains emploient régulièrement des cure-dents ; on peut aussi se servir de fins bouts de bois, de la taille d'une allumette, de brins de paille divisés, etc... Les fines baguettes de verre sont à rejeter parce qu'elles griffent toujours plus ou moins la lame. Il est bien entendu que tout le matériel doit être stérile et qu'un même agitateur ne doit servir qu'une fois. On peut utiliser le même pour les différentes dilutions d'un échantillon, à condition de commencer par le taux le plus élevé et de veiller à ce qu'il n'y adhère pas une goutte du mélange lorsque l'on change de carré. On peut encore employer dans les mêmes conditions : le fil de platine qui sert dans les Laboratoires au repiquage des cultures. Il faut alors avoir soin de le flamber chaque fois que l'on passe d'un sérum à un autre.

4° Temps.

Lorsque le mélange a été soigneusement effectué dans toutes les divisions, les lampes sont allumées ou tournées vers la plaque de façon à l'éclairer obliquement, soit de bas en haut, soit latéralement, suivant le dispositif. Ceci

a pour but, non seulement d'éclairer violemment la lame de verre pour la lecture des résultats, mais aussi de la chauffer et de faciliter la réaction. Il faut éviter les sources de chaleur trop importantes, qui évaporent rapidement le liquide ; il y a souvent lieu de supprimer ou de modérer l'éclairage pendant le délai que demande la réaction.

Pour compléter le mélange et aider l'agglutination la plaque est retirée de la glissière qui la maintient sur la boîte : on lui imprime pendant une trentaine de secondes des vibrations latérales, des secousses légères, aussi rapides et aussi brèves que possible. Elle est ensuite remise en place.

5^e Temps.

La lecture des résultats peut avoir lieu cinq minutes environ après la fin du troisième temps.

Le mélange a, dès les premiers instants, une apparence laiteuse uniforme.

Dans les réactions négatives, son aspect reste le même.

La réaction positive se traduit par un groupement, une floculation des éléments microbiens qui donne une apparence granuleuse au liquide et l'éclaircit.

Ce phénomène peut être plus ou moins rapide et plus ou moins complet, on peut distinguer :

l'agglutination totale ou réaction positive = +

l'agglutination partielle ou réaction douteuse = D ou P.

l'agglutination nulle ou réaction négative = —.

L'interprétation de ces résultats est la même que pour ceux de l'agglutination lente :

On considère comme indicatrices d'infection les réactions nettement positives à 1/50 et au-dessus, et douteuses les agglutinations partielles jusqu'à 1/100.

6° Temps.

Avant d'entreprendre une autre série de diagnostics, il y a lieu de nettoyer soigneusement la pipette graduée et la plaque de verre. Un premier lavage avec une solution chlorhydrique à 2 % sera suivi de deux rinçages, l'un à l'eau courante, l'autre à l'eau distillée.

ESSAIS PERSONNELS.

Notre antigène fut titré sur quatre sérums différents : le premier était négatif à tous les taux pour la méthode normale lente ; le second agglutinait complètement à 1/1000 ; le troisième partiellement à 1/30 et 1/50 ; le quatrième totalement à 1/50 et partiellement jusqu'à 1/300. Nous avons adopté comme dilution les proportions de 0,cc 7 de solution salée phénolée pour 0,cc 5 d'antigène originel. Ce rapport était celui qui nous avait donné les résultats les plus satisfaisants ; une seule différence pouvant être notée : l'agglutination partielle du n° 4 n'atteignant que 1/150.

Les sérums que nous avons utilisés provenaient tous du service des diagnostics du Laboratoire National des Recherches qui les avait déjà soumis à l'épreuve lente de wright.

Pour la facilité de l'exposé, nous désignerons, dans l'énumération qui va suivre, par R. le procédé rapide que nous avons utilisé et par W. la méthode lente qui nous a servi de contrôle.

1^{re} Série.

11 échantillons pris au hasard :

9 sont concordants dans leurs résultats. Ils se décomposent comme suit : 5 positifs, 2 négatifs, 2 douteux à agglutination partielle, pour l'un à 1/100, pour l'autre à 1/50.

Nous avons trouvé un sérum positif à 1/150 qui était négatif par W., un autre positif à 1/30 par cette méthode agglutinait partiellement jusqu'à 1/100 par R.

2^e Série.

Cinq exemples venant de vaches ayant avorté, depuis moins d'un mois, dans différents élevages.

Tous sont positifs à 1/500 et au-dessus par les deux procédés.

3^e Série.

Dix échantillons du troupeau de M. S. à P.

9 réagissent.

2 résultats ne concordent pas : 1 négatif à toutes les dilutions par R. est positif à 1/100 par W ; 1 partiellement agglutiné à 1/30 par cette méthode donne une réaction semblable à 1/100 par R.

Dans trois autres cas, douteux, nous avons relevé des différences minimales : sur des réactions partielles, deux fois elles étaient à 1/100 par W et à 1/50 par R., et une fois au contraire à 1/50 avec celle-ci et à 1/30 avec l'autre.

4^e Série.

7 prélèvements de sang envoyés par M. R. à S.

Le procédé de Wright a donné une agglutination totale à 1/33 et partielle à 1/50 alors que tous nos résultats ont été négatifs.

5^e Série.

14 sérums de troupeau de M. P. à M.

Il y a concordance sauf dans trois cas. Nous en trouvons un positif à 1/50 alors qu'il est négatif à tous les taux par W. Un second est donné positif à 1/150 par R. alors que W lui attribue une réaction partielle à 1/50 ; le troisième enfin est

positif par les deux méthodes, à 1/500 par W et seulement à 1/300 par R.

Parmi les autres qui fournissent des résultats semblables, on trouve 4 positifs : 3 à 1/500 et 1 à 1/300, contre 7 négatifs.

6° *Série.*

9 échantillons d'un même troupeau à M. G. de F. dont trois sont positifs.

Il est noté une seule différence sur le n° 5 qui, positif jusqu'à 1/330 par W, agglutine partiellement à 1/100 et à 1/150 par la méthode rapide.

7° *Série.*

22 exemples de différents élevages.

Sur 15 sérums qui fournissent une réaction, 4 ne concordent pas. Deux sont négatifs par R. alors qu'ils étaient positifs, l'un à 1/330, l'autre à 1/50 par W ; un était positif net par cette méthode à 1/50, il nous a donné une agglutination partielle à ce même taux. Le dernier fut positif à 1/150 par R., alors que le contrôle le donnait partiel à 1/50.

8° *Série.*

18 sérums du troupeau de M. L. à R.

15 réactions, dont 6 positives et 9 négatives sont identiques par les deux méthodes.

Deux échantillons sont négatifs par W à toutes les dilutions et donnent par R une agglutination à 1/50 partielle pour l'un, complète pour l'autre. Un autre se montre négatif par celle-ci alors que le contrôle le donne positif partiel à 1/50 et 1/100.

Si nous examinons ces données, nous constatons que dans 19 cas, les résultats n'ont pas été absolument concor-

dants. Pour 6 sérums le diagnostic n'est pas modifié. Il l'est dans 13 des 96 examens.

Parmi ceux-ci, 7 donnent l'avantage à l'agglutination rapide, à savoir :

2 résultats douteux qui passent positifs.

2 résultats négatifs qui passent douteux.

3 résultats négatifs qui passent positifs.

6 échappent à ce procédé et sont décelés par la méthode lente. Ils comprennent :

2 résultats douteux qui étaient positifs

3 résultats négatifs qui étaient positifs

1 résultat négatif qui était douteux.

Notons qu'un seul sérum a donné des réactions nettement différentes par les deux procédés.

Au point de vue pratique, seuls les six derniers résultats peuvent être interprétés contre le procédé préconisé par Huddleson ; ils sont d'ailleurs compensés par les cas précédents qui plaident en faveur d'une sensibilité plus grande de la méthode.

EXPÉRIMENTATIONS DIVERSES.

Lienhardt et Kitselmann en 1928 signalent que la méthode de Huddleson et Carlson, dans leurs mains, a donné seulement un résultat discordant, dans 1 % des cas. Ils considèrent ceci comme négligeable au point de vue pratique.

Huddleson et Abell, en publiant leur nouveau procédé, déclarent, après plusieurs milliers d'épreuves, avoir obtenu une précision et une spécificité analogues à celles des autres épreuves.

Palmer et Baker, en 1929, examinent 609 sérums et trou-

vent la méthode rapide aussi juste que la lente par le diagnostic sérologique de la « maladie de Bang ». Cependant sur le total, la première donne 99 réagissants contre 83 fournis par la seconde.

Damon étudie l'agglutination rapide et la trouve plus sensible que la lente. Elle lui permet de relever de nombreux sérums suspects déclarés négatifs par la méthode ordinaire. Graham et Thorp signalent des variations insignifiantes sur 5.702 exemples. Ils font ressortir la sensibilité de l'antigène de Huddleson spécialement pour les réactions partielles. Ils proposent de fréquentes vérifications avec l'épreuve macroscopique lente. Ils considèrent cependant que la réaction peut être utilisée pour le diagnostic courant sans nuire à la précision.

Gwatkin en 1931, essaie le procédé après chauffage sur 284 sérums, il obtient des résultats non concordants dans 10 % des cas et nettement divergents dans 6,6 %.

Il recommence avec 100 échantillons non chauffés et obtient une discordance nette de 15 %.

Les résultats de nos expériences paraissent moins favorables encore. Peut-être ne faut-il voir là qu'une mauvaise application de la technique ou simplement le fait que nous avons généralement choisi nos sérums parmi des séries que nous savions être intéressantes, soit par la variété, soit par la nature des réactions données. Ceci a certainement faussé la valeur statistique de nos chiffres.

AVANTAGES DE LA MÉTHODE.

Comme l'indique son nom, elle permet de connaître le résultat à bref délai. Avec elle, d'après Huddleson, il serait facile d'opérer sur place le tirage d'un troupeau, de con-

trôler l'état sanitaire des animaux que l'on désire introduire dans un élevage sain !

Toujours d'après cet auteur, on pourrait déceler l'agglutination partielle avec plus de précision. Ceci ne semble d'ailleurs pas impossible à obtenir par le procédé lent.

Pour Wimicky et Larson, la méthode serait susceptible d'être appliquée par le praticien lui-même. A cet effet, dans certains pays, le commerce met à sa disposition les appareils et le réactif.

L'efficacité prophylactique serait la même qu'avec les diagnostics du Laboratoire. Le travail ne serait pas plus long que celui nécessité par l'envoi des échantillons de sang !

SERVITUDES DE LA MÉTHODE.

Les auteurs américains ont tous exposé les avantages de l'agglutination rapide avec une telle ardeur qu'ils en ont, semble-t-il, oublié totalement de nous montrer les inconvénients qu'elle présente :

1°) Sa réaction dépend de la température, très difficile à régler, de l'agitation du mélange, de la surface de la plaque, de sa propreté plus ou moins rigoureuse, de celle des pipettes et aussi de l'habileté de l'opérateur.

2°) Elle exige la manipulation de quantités de sérum infimes, difficulté sérieuse et susceptible de provoquer des erreurs notables.

3°) Elle demande beaucoup plus d'attention que la réaction de Wright ; elle est plus minutieuse et donc plus fatigante.

4°) Elle limite le champ des investigations aux taux compris entre 1/50 et 1/500 au maximum, à cause de la valeur des fractions de sérum et d'antigène à mesurer.

5°) Si elle permet dans certains cas d'évaluer la vitesse d'agglutination, ceci ne va pas bien loin, l'évaporation du liquide étant relativement rapide. Ce phénomène doit être d'ailleurs une cause supplémentaire d'erreur.

6°) La vente de l'antigène dans le commerce n'est pas sans inconvénients. Malgré son excellente conservation, celui-ci se modifie. Il pourra dans la pratique fournir des réactions fausses, pour peu que l'opérateur veuille s'en servir après le délai fixé ; on le conserve dans de mauvaises conditions.

7°) Le procédé comporte toujours les inconvénients de toutes les recherches d'anticorps, à savoir : l'inconstance de ceux-ci, leur apparition tardive, leur spécificité relative à l'origine des souches microbiennes.

APPRÉCIATION.

L'agglutination rapide n'est pas parfaite, loin de là, et nous n'affirmerons pas avec Wimicky et Larson, « qu'elle est à la lutte contre la brucellose ce que l'intradermotuberculation est à celle de la tuberculose ».

Ses résultats sans être superposables à ceux de l'agglutination lente paraissent équivalents. Il serait d'ailleurs difficile d'admettre qu'elle est plus sensible sans reconnaître par là que la « standardisation » de l'antigène a été mal faite.

De plus, elle est délicate à mettre en œuvre, délicate à interpréter et comporte un matériel encore très compliqué. Sa rapidité est réelle, mais seulement lorsque l'on doit examiner un nombre limité d'échantillons. Sa simplicité est très réduite par ce fait qu'il semble bien indispensable

de chauffer le sérum si l'on veut éviter de nombreuses erreurs.

Pour les laboratoires, elle ne présente donc aucun avantage sur la méthode lente. Elle n'est pas non plus susceptible d'être adoptée par les praticiens dans un pays où le service des diagnostics est rapide et bien organisé, et où l'on a l'habitude de laisser, avec juste raison, les réactions sérologiques aux spécialistes.

Reconnaissons cependant qu'elle peut rendre des services, mais dans des conditions qui ne sont pas celles qui nous intéressent, celles de notre pays.

Seroagglutination microscopique rapide

C'est le procédé que Widal a fait connaître pour la mise en évidence du bacille typhique.

Il a été fort peu employé pour la recherche de l'infection brucellique. Seul Huddleson en a tiré parti dans sa première méthode de diagnostic rapide.

Nous avons étudié la possibilité de sa mise en œuvre pour le diagnostic de la Brucellose bovine.

PRÉPARATION DE L'ANTIGÈNE.

Nous avons adopté la technique indiquée par Huddleson et Abell et que nous avons exposée à propos de la méthode précédente.

La culture d'abortus peut être ramassée dans ce cas avec une quantité de liquide plus importante que dans le précédent. Cette latitude abrège quelque peu le temps de l'opération.

DILUTION DE L'ANTIGÈNE.

Cette opération est ici basée uniquement sur le fait que l'opacité d'une suspension microbienne peut être tenue pour proportionnelle à la quantité d'organismes qu'elle contient, lorsqu'ils ont des dimensions voisines et ne sont pas agglutinés.

Le procédé devant être comparé à l'agglutination lente, il y a lieu de connaître la concentration de l'antigène employé pour celle-ci.

Il est alors facile de ramener la suspension bacillaire que l'on vient d'obtenir à ce même taux. Il existe pour cela des appareils de précision, tels l'opacimètre de Chêneveau

employé surtout pour les recherches sur les vaccins microbiens et les « néphélémètres » de Gâtes et de Mac Farland qu'utilisent les Américains. De tels appareils ne sont pas indispensables ; on peut obtenir une approximation suffisante, si l'on possède un échantillon de l'antigène lent. Il est, en effet, facile d'apprécier, soit par transparence à la lumière du jour, soit par un éclaircissement intensif sur fond noir, la concentration de suspensions microbiennes placées dans des conditions identiques.

On peut utiliser, comme nous l'avons fait, les petits tubes à réactions sérologiques. Dans une série de ceux-ci, on met une goutte d'émulsion pure, on ajoute à chacun d'eux 5, 10, 20, 25 ou 30 gouttes, plus si c'est nécessaire, de solution salée phénolée. La comparaison successive de ces dilutions avec une quantité de même ordre d'antigène lent donne une première approximation de la concentration de la suspension obtenue au premier temps.

Dans une seconde opération, on serre le résultat de plus près en mettant, par exemple, 22, 23 à 28 gouttes de solution salée, si le premier essai a fait adopter le tube à 25 gouttes. On peut encore contrôler le résultat en opérant avec des tubes plus larges et une quantité 5 ou 10 fois plus importante du mélange.

Dans toutes ces manipulations, il faut veiller à ce que les largeurs de tubes, les épaisseurs de verre, soient rigoureusement identiques, que les pipettes aient une même section et soient employées de la même façon.

On connaît aussi la concentration de la suspension microbienne que l'on a préparée. Il ne reste plus qu'à la diluer de manière à obtenir un antigène dix fois plus concentré que celui de l'agglutination lente.

VALEUR DE L'ANTIGÈNE.

Les « néphélémètres » ne doivent pas donner de meilleurs résultats que l'opération précédente soigneusement exécutuée. Ils sont basés sur le même principe et n'ont que l'avantage de fournir les repères connus de leurs graduations.

L'antigène obtenu se conserve bien. A titre d'essai, nous en avons laissé un échantillon à la température du Laboratoire pendant près de deux mois. Au bout de ce temps nous n'y avons trouvé que de petits amas de microbes, peu volumineux et peu nombreux, qu'une filtration sur une mince couche de coton hydrophile a fait facilement disparaître. Cette opération n'a d'ailleurs pas sensiblement modifié la concentration et la valeur de l'antigène.

Nous en avons laissé pendant plus de quatre mois à 0° sans qu'il subisse de ce fait aucune altération. Ceci permet d'en conserver comme témoin une certaine quantité en tube scellé.

MATÉRIEL.

Il comporte :

1°) Des tubes à réactions sérologiques qui permettent de recueillir et de diluer les sérums à examiner. On les place sur un porte-tube approprié, sur trois rangs en profondeur. On y dispose dans l'ordre : le sérum pur ; le sérum dilué au dixième à l'eau physiologique et la pipette qui a servi au sérum ; la seconde des pipettes jumelles destinée à prélever l'antigène.

2°) Les pipettes dont il vient d'être question. Elles doivent, deux par deux, avoir une même section pour débiter des gouttes rigoureusement identiques. Ceci est aisé-

ment obtenu, comme l'a conseillé Widal, en étirant dans la flamme d'un bec Bunsen un tube de verre bouché et stérilisé. Après refroidissement, on le sectionne, à peu près en son milieu, par un trait de lime net. On a de la sorte deux pipettes semblables, l'une servira à compter les gouttes du sérum, l'autre celles de l'antigène pour un même échantillon.

3°) Un jeu de 6 verres de montre dans lesquels sera effectué le mélange.

4°) Des agitateurs. On peut utiliser à cet effet des cure-dents, des bouts de bois stérilisés ou un fil platiné que l'on flambe après chaque opération. Nous avons adopté l'emploi de fines tiges de verre de trois à quatre centimètres de long, obtenues par étirements successifs à la flamme. Sectionnées par le feu, elles sont par le fait même rodées et stérilisées. Elles sont peu couteuses et le liquide y adhère peu.

5°) Des pipettes dont le bout coudé et très effilé permet de prélever la goutte destinée à l'examen au fond du verre de montre. Ceci rend possible une lecture à la fois précoce et sure.

6°) Des lames, des lamelles, les unes et les autres fines, non rayées et très propres.

7°) Un microscope courant susceptible de fournir un grossissement de 400 diamètres environ.

8°) Une lampe spéciale à rayons parallèles permettant un bon examen à la lumière artificielle, même en plein jour, n'est pas indispensable, mais rend des services.

RÉACTION.

1°) On met en présence le nombre de gouttes voulu de

sérum pur ou dilué, suivant le cas, et d'antigène dans les verres de montre disposés sur un rang.

Le tableau suivant résume l'opération, indique les quantités respectives utilisées et les taux obtenus.

N ^{os} des verres	1	2	3	4	5	6
Nombre de gouttes de sérum pur	1	1	1			
Nombre de gouttes de sérum dilué à 1/10 ...				1	1	1
Nombre de gouttes d'antigène	3	5	10	3	5	10
Taux obtenus	1/30	1/50	1/100	1/300	1/500	1/1000

Il faut remarquer qu'il importe surtout d'obtenir les mêmes taux de dilution que dans le procédé d'agglutination de Wright. A cet effet on peut aussi employer deux antigènes de concentration différente, l'un étant semblable à celui du procédé lent, l'autre 10 fois plus fort. On aboutit alors au tableau suivant :

N ^{os} des verres	1	2	3	4	5	6
Nombre de gouttes de sérum dilué à 1/10 ...	3	2	1	3	2	1
Nombre de gouttes d'antigène de concen- tration 1	10	10	10			
Nombre de gouttes d'antigène de concen- tration 10				10	10	10
Taux obtenus	1/33	1/50	1/100	1/330	1/500	1/1000

Dans les expériences que nous citerons plus loin, nous avons surtout appliqué le premier tableau.

2°) Le mélange doit être exécuté aussi soigneusement que possible. On peut n'utiliser qu'un agitateur par serum à condition de commencer par le verre n° 6, c'est-à-dire le taux le plus élevé.

Pour l'achever et activer la réaction, qui s'effectue à la température du laboratoire, il est indiqué d'imprimer successivement à chaque verre une série de secousses rapides, peu étendues et aussi nerveuses que possible.

3°) Au bout d'une dizaine de minutes, après deux ou trois agitations successives, on prélève à l'aide d'une des pipettes courbes et effilées une gouttelette du mélange. On la dépose sur une lame puis on la recouvre d'une lamelle. Il est bon de préparer de même une goutte d'antigène pur qui servira de comparaison pour les réactions douteuses.

Il faut avoir soin de rincer immédiatement et méticuleusement les pipettes dans un verre d'eau salée-phénolée, ou de solution chlorydrique à 2/100, fréquemment renouvelée.

On examine ensuite au microscope. Un grossissement moyen de 400 diamètres est suffisant. Il faut disposer d'un bon éclairage, naturel ou artificiel, diaphragmer assez fort et procéder à une mise au point soignée.

Les corps microbiens non agglutinés sont à peine visibles. Ils se présentent en points brillants, si le fond est suffisamment sombre. Ils sont entraînés dans un même sens par le courant du liquide dans lequel ils nagent.

Lorsque l'agglutination a eu lieu, on les voit par groupes importants, généralement aussi animés de mouvement, du moins au début, de telle sorte que l'on a, réduite à des proportions infimes, l'image d'un fleuve, à courant rapide, charriant d'innombrables glaçons qui s'accolent, se séparent, se bousculent et finalement s'éloignent.

Le phénomène peut être, comme nous l'indiquons ici, très net, mais il peut aussi, et cela arrive souvent, être incomplet. Dans ce cas, les amas microbiens sont souvent plus petits, mais surtout beaucoup plus rares : au nombre de 2 ou 3 à la fois dans le champ du microscope. On peut distinguer dans le courant des corpuscules libres. La réaction est positive partielle.

Il peut encore y avoir quelques rares amas de petite taille. Il y a lieu, alors, de recourir à la comparaison avec l'antigène. La réaction est douteuse.

EXPÉRIENCES.

Nous ne donnerons pas le tableau des examens que nous avons effectués par cette méthode, cela serait fastidieux. Nous commenterons les résultats obtenus sans prétendre fournir une statistique pour la comparaison de la méthode avec l'agglutination lente. Elle serait fausse car nous avons presque toujours examiné des sérums choisis, dans le lot de ceux qui sont envoyés au Laboratoire National des Recherches, pour la nature et la valeur de leur réaction.

Nous avons étudié par petites séries de quatre ou cinq, 64 échantillons.

La juxtaposition des réactions et de celles données par le procédé de Wright, au Laboratoire des Recherches, nous a montré :

27 *Résultats concordants, à savoir :*

7 positifs à tous les taux.

9 positifs à des taux compris entre 1/100 et 1/1000.

4 positifs jusqu'à 1/50 dont deux partiellement.

2 positifs à 1/30 dont un partiellement.

5 négatifs à tous les taux.

37 *Résultats ne concordent pas :*

(Pour la commodité de l'exposé, nous parlerons des modifications comme si elles avaient eu lieu en passant de l'agglutination lente au procédé de Widal).

25 *Sérums restent positifs :*

11 sont douteux à 1/1000 alors qu'ils étaient positifs à ce taux.

7 sont douteux à 1/500 et 1/1000 alors qu'ils étaient positifs à 1/1000.

1 est positif à 1/300 et douteux à 1/500 alors qu'il était positif à 1/330.

1 est positif à 1/300 et douteux jusqu'à 1/1000 alors qu'il était seulement positif à 1/100.

3 sont positifs à 1/100 alors qu'ils étaient positifs à 1/50 l'un étant douteux à 1/100.

2 sont positifs à 1/100 et douteux jusqu'à 1/300, alors qu'ils étaient : l'un positif à 1/50, les autres positifs à 1/330.

4 *Sérums restent négatifs.*

3 agglutinent à 1/30, dont l'un partiellement, alors qu'ils étaient négatifs à tous les taux.

1 est négatif à tous les taux alors qu'il était négatif à 1/33.

2 *Sérums négatifs passent douteux.*

1 est positif à 1/50 et douteux à 1/100 alors qu'il était totalement négatif.

1 est positif à 1/100 alors qu'il était positif à 1/33.

2 Sérums négatifs passent positifs.

1 est positif à 1/500 alors qu'il était totalement négatif.

1 est positif à 1/300 alors qu'il était positif à 1/33.

3 Sérums douteux passent positifs.

2 sont positifs à 1/300 alors qu'ils étaient douteux à 1/50.

1 est positif à 1/100 alors qu'il était douteux à 1/50 et à 1/100.

1 Sérum positif passe douteux.

Il est positif partiel à 1/50 alors qu'il était positif à tous les taux.

De cet exposé il ressort que les diagnostics posés par les deux méthodes eussent été différents dans huit des cas. Parmi ceux-ci un seul sérum positif eût échappé au procédé de Widal qui l'a déclaré seulement douteux. Dans les sept autres cas le microscope a révélé des infectés certains ou probables que la méthode courante avait laissés passer.

Il ne nous est pas permis de tirer une conclusion sérieuse, vu le nombre peu conséquent d'examens que nous avons effectués. Nous croyons cependant pouvoir présenter les quelques remarques que nous avons pu faire au cours de ceux-ci.

1°) Ce procédé, comme le précédent, est susceptible de fournir le résultat dans un délai très court et semble-t-il avec moins de chances d'erreur.

2°) Il peut être mis en œuvre avec une quantité réduite de sérum.

3°) Il permet l'examen des échantillons de sang hémolysés ou mal centrifugés.

L'hémoglobine ne gêne pas la réaction. Les hématies, mê-

me en assez grand nombre, permettent au contraire une mise au point plus aisée et plus rapide.

INCONVÉNIENTS.

L'exécution en est compliquée :

1°) Les préparatifs sont longs : il faut fabriquer de nombreuses pipettes ou les nettoyer avec beaucoup de soins, diluer le sérum, choisir les lames et les lamelles, les dégraisser, etc...

2°) La réaction elle-même est minutieuse : il faut compter les gouttes, prélever convenablement la parcelle du mélange à examiner.

3°) La lecture du résultat d'un seul sérum demande une vingtaine de minutes, il faut faire sept mises au point délicates successives et plus si la réaction n'est pas nette. Il faut y apporter une attention soutenue. La chose est fatigante, de sorte qu'un même opérateur ne peut examiner qu'un nombre tout à fait limité d'échantillons en une journée.

4°) Le matériel est loin d'être simple.

5°) De plus, cette méthode n'est pas à l'abri des erreurs dues aux agglutinines et elle exige toujours le chauffage du sérum pendant une demi-heure à 56°.

CONCLUSION.

Le procédé Widal n'est pas susceptible de prendre la place de l'agglutination lente et encore moins d'être employé par le praticien. Il peut cependant rendre des services aux laboratoires spécialisés dans le diagnostic des brucelloses.

Il est au moins d'une valeur égale à celle de la méthode de Wright et doit pouvoir, lorsqu'il est particulièrement

important de poser le diagnostic, être utilisé pour les cas douteux et les échantillons hémolysés.

Nous pensons pour cela qu'il serait bon de le simplifier quelque peu et d'abandonner, à moins de retarder le moment de l'examen, les dilutions de 1/500 et 1/1000 dont les réactions sont rarement nettes.

La grosseur et le nombre des amas renseignent d'ailleurs déjà suffisamment sur la valeur quantitative des agglutinives au sérum.

Hémoagglutination

A) PROCÉDÉ RAPIDE SUR LAME.

Né d'une modification de la méthode d'Huddleson et Abell il est appliqué au diagnostic de la pullorose.

A notre connaissance, il n'a pas encore été utilisé pour la brucellose, mais il peut l'être.

C'est Bunyea, Hall et Dorset qui, devant la difficulté qu'il y a de recueillir du sérum chez les oiseaux, proposèrent de recourir à ce diagnostic.

L'antigène doit être concentré et préparé suivant une technique voisine de celle publiée par Huddleson.

La réaction s'effectue sur une lame à examen microscopique ordinaire, très propre, dégraissée et flambée. On y place une goutte d'égale volume de sang, prélevé avec une lancette, à la crête pour la poule, et de l'antigène spécial. On mélange, en étendant quelque peu le liquide, avec un agitateur métallique aussi fin que possible et stérilisé par le feu.

La lecture du résultat peut être effectuée sur fond sombre au bout d'une minute environ.

La réaction positive se traduit par une floculation. Les flocons sont consistants, sphériques et nagent dans le liquide. Celui-ci s'éclaircit, sa surface devient grumeleuse, irrégulière. Pour un résultat négatif, la tache reste rouge, homogène.

L'appréciation de la réaction est délicate et demande de la pratique. Il faut se méfier des agglutinations non spécifiques dues à la coagulation du sang. Souvent ces amas collent à la lame, tandis que les flocons spécifiques surnagent.

Il faut opérer dans un endroit frais, avec des gouttes de petites dimensions, agiter soigneusement l'antigène et mélanger rapidement.

Il ne faut accepter, comme positives, que les réactions rapides ; celles qui apparaissent après plusieurs minutes doivent être retenues seulement comme douteuses.

Le procédé a été utilisé surtout en Allemagne où il fut préconisé ces dernières années par Miessner, Berger, Schutt, etc... Les laboratoires y délivrent l'antigène en flacons de 10 cc munis d'un compte-goutte. Il a l'avantage de pouvoir être effectué sur place, avec un matériel assez simple, mais il a aussi de nombreux inconvénients que nous retrouvons dans la méthode suivante.

B) ABORTOSCOPE de BÉVAN.

C'est un appareil destiné à la recherche des agglutini-nes. Il utilise le sang total. Il a été imaginé en 1921 par Bévan, Directeur du Laboratoire des Recherches de la Rhodésie du Sud.

Il comporte un petit tube où est placée une dilution de brucella abortus dans un liquide spécial anticoagulant. Il est fermé par un bouchon sur lequel est monté un fil qui descend à l'intérieur du tube et se termine en boucle repliée, dont les tours sont suffisamment petits et rapprochés pour exercer une attraction capillaire et rassembler la quantité de sang nécessaire à une agglutination. Les spires sont calculées pour retenir une partie de plasma équivalente à la centième partie de la suspension microbienne.

La dilution est telle que le sang entier peut être utilisé, ce qui obvie à l'inconvénient de la séparation du sérum. On agite le tube de façon que le mot « infecté » écrit sur la

paroi du tube ne puisse plus être lu. Une goutte de sang de l'oreille est recueillie dans la boucle, et celle-ci est mise dans le tube qui est bouché et agité de façon à ce que le mélange du sang et de l'émulsion soit très intime. On laisse en place dans un endroit chauffé pendant 18 heures. Si au bout de ce temps, ou avant, le mot « infecté » est lu clairement, la réaction est positive, la partie solide étant tombée au fond.

Ce procédé a été utilisé par l'auteur et dans plusieurs pays, notamment en Angleterre. Il a donné des résultats acceptables pour la prophylaxie. Malheureusement, le matériel est délicat ; de plus pour éprouver un troupeau, il faut disposer de nombreux tubes.

Si la méthode supprime quelques inconvénients, en particulier celui de la séparation du sérum, la lecture demande un délai, de 18 heures en moyenne, pendant lequel il faut laisser l'appareil en place. De ce fait, le procédé perd beaucoup de ses qualités, en particulier celles qui pouvaient en faire envisager l'utilisation directe à la ferme. D'autre part, ses résultats sont certainement faussés par les agglutinations non spécifiques.

En 1928, Bévan a modifié sa méthode en recueillant une petite quantité du mélange de l'abortoscope pour l'examiner au microscope dont la platine est chauffée par une lampe à alcool.

Cette technique a peut-être l'avantage d'accroître la précocité du diagnostic, de le rendre plus sûr, mais elle le complique beaucoup et lui ajoute presque tous les inconvénients du procédé de Widal.

CONCLUSION.

L'Hémoagglutination peut rendre des services, mais la part supplémentaire d'erreurs qu'elle apporte n'est pas négligeable, nous ne la retiendrons pas.

Réaction allergique

On s'est efforcé, par tous les moyens, de développer les méthodes d'identification des sujets atteints de brucellose. On a cherché un procédé susceptible de différencier les animaux infectés des immunisés, et aussi, on pourrait dire surtout, un procédé pratique et simple.

Les succès donnés par l'emploi de la tuberculine et de la malleïne, tant en sous-cutanée qu'en intradermo, comme moyens de diagnostic de la tuberculose et de la morve, ont naturellement suggéré l'utilisation d'un matériel semblablement préparé, en partant de culture de *brucella abortus*, comme instrument de recherche de l'infection qui nous occupe.

Mac Fadyean et Stockmann à la Commission Anglaise, en 1909, les premiers, emploient en intraveineuse ou sous-cutanée cet extrait, qu'ils appellent Abortine, mais qui a quelquefois reçu le nom de Bangène.

Brulle, Belfanti, Zwick, Wedemann essaient peu après de vérifier la méthode. Selon Hutyra et Marek ils n'aboutissent qu'à montrer la contradiction fréquente de ses résultats et de ceux de l'agglutination.

Meyer et Hardenbergh, en 1913, expérimentent en intraveineuse une abortine purifiée et déclarent obtenir des résultats encourageants.

En 1917, Reichel et Harkins injectent une abortine intradermique au pli caudal. Ils sont satisfaits de ce réactif, mais seulement en tant que révélateur de l'état sanitaire d'un troupeau.

En 1920, Stafseth expérimente différentes abortines intradermiques, sur des cobayes infectés par ses soins. Il donne

la préférence à la préparation décrite par Reichel et Harkins. Il trouve la réaction excellente pour le cobaye et en déduit qu'il doit en être de même pour la vache.

Holtum, en 1928, emploie la double intradermo inoculation. D'après lui la méthode dépiste plus d'infectés que les épreuves sérologiques.

Edgington et Broerman, en 1930, confirment ces expériences et montrent en outre que la double injection n'est pas nécessaire.

PRÉPARATION DE L'ABORTINE.

Différents modes de préparation, se rapprochant de celui qui donne la tuberculine et la malleïne, ont été essayés.

On utilise d'abord une culture d'un mois, en bouillon sérum glyciné, glucosé, chauffée pendant deux heures à 100°, puis filtrée.

Meyer et Hardenbergh préconisent une abortine purifiée, obtenue en précipitant par l'alcool une culture d'abortus, qui leur a paru satisfaisante.

Reichel et Harkins, puis Stafseth, ont retenu une suspension de bacilles tués et lavés, exempte des débris de milieu de culture.

Holtum, Edgington et Broerman obtiennent de bons résultats avec un réactif préparé en partant d'une culture ancienne sur gélose, émulsionnée en solution salée phénolée et chauffée pendant 1/2 heure à 65°.

UTILISATION.

L'abortine a été, au début, injectée en intra-veineuse ou sous-cutanée à raison de 10 cc par animal. Ce mode opératoire offre les mêmes inconvénients que toutes les réactions

allergiques générales. De plus, il n'a pas fourni les résultats que l'on en attendait. Aussi a-t-il été rapidement abandonné.

La majorité des expérimentateurs ont utilisé l'injection intradermique à la dose d'abord de 1 cc, puis de 0 cc 2.

Comme lieu d'inoculation, certains choisirent la paupière, d'autres la peau rasée et aseptisée du cou ou du côté de la queue, enfin les replis de la base de cet organe. Ce dernier choix paraît judicieux, car le pli opposé à celui qui a reçu l'antigène peut servir de comparaison pour l'appréciation de la réaction. Celle-ci se traduit par l'épaississement et l'induration de la peau. Elle persiste plusieurs jours et peut être évaluée 48 heures après l'inoculation, soit simplement à la vue, soit au moyen d'instruments de précision, comme le compas d'épaisseur.

Beaucoup admettent que le résultat est positif lorsque la peau a doublé d'épaisseur.

Quelquefois on note seulement une tuméfaction molle œdémateuse. Il faut évidemment tenir compte de l'étendue de l'œdème, de sa sensibilité, de la chaleur, dans l'appréciation de la réaction. Edgington conseille, en présence de plaque œdémateuse étendue et chaude, d'accepter comme positive une dimension à laquelle il manque 5 mm. pour être doublée.

ESSAIS.

Grâce à l'obligeance de Monsieur Rinjard, nous avons eu l'occasion d'utiliser dans quelques cas un extrait de toxine d'abortus obtenu en faisant dialyser, en solution phénolée pendant plusieurs mois, une culture sur gélose. Nous injectons 0 cc,2 d'antigène dans le pli caudal d'un

seul côté, l'autre considéré comme étant d'égale épaisseur nous servant d'élément d'appréciation de la réaction.

Celle-ci est évaluée 48 heures après à l'aide d'un instrument de fortune, donnant l'approximation au millimètre : le « pied à coulisse » des ajusteurs. Nous prenons en même temps l'épaisseur des deux plis de la queue au même niveau : celui du point de réaction maxima. L'organe étant toujours tendu horizontalement.

La réaction se traduit par le rapport :

épaisseur au point d'injection

épaisseur au point opposé

Nous admettons comme résultat positif tout rapport égal ou supérieur à 2, lorsque l'épaississement est dur et peu sensible ; égal ou supérieur à 1,6 s'il est mou, étendu et chaud.

L'épreuve a toujours été contrôlée par la séro-agglutination lente.

Chez une dizaine de vaches, ayant récemment avorté, et chez lesquelles l'agglutination, mise en œuvre dans les délais, a été positive, nous avons pu noter des résultats très nets.

Sur quelques-unes, prises dans les mêmes conditions, et également reconnues infectées, la réaction a été faible, sans motif apparent.

Dans un troupeau contaminé et prémunié un an auparavant, nous avons obtenu généralement des réactions peu accusées et peu concordantes avec l'agglutination qui les donnait comme positives de 1/100 à 1/1000.

Une vache ayant avorté à six mois, environ deux mois

avant, n'a pas réagi à l'agglutination et a fourni la seule réaction nette, avec un rapport de 2,7, des 15 animaux du lot.

Nous ne nous reconnaissons pas le droit, après une si brève expérimentation, de porter un jugement sur l'extrait qui nous a servi ; mais nous ferons remarquer, qu'au premier abord, il paraît doué de réelles qualités pour renseigner, après un avortement, sur la nature de celui-ci. Par contre, il semble assez inconstant comme moyen de recherche des infectés.

CONCLUSION.

Les réactifs ayant jusqu'à présent donné le plus de satisfaction, sont ceux de Reichel, Harkins et de Holtum.

Si l'on considère les résultats obtenus avec eux, par divers auteurs, on s'étonne à juste titre que leur emploi ne soit pas encore entré dans la pratique. Rappelons en effet, que Holtum, après 87 expérimentations, a signalé que sur 46 sujets qui ne réagissent pas, il ne trouve aucun sérum agglutinant. Dans 14 cas il obtient une réaction et la contrôle par les inoculations, alors que l'agglutination n'a rien donné. Enfin, pour trois animaux seulement, le résultat ne peut être confirmé.

Ces chiffres donnent — le côté pratique lui-même mis à part, — nettement l'avantage à l'abortino-réaction. Elle n'est pas parfaite et il y a lieu de travailler à sa mise au point, surtout en ce qui concerne la préparation de l'antigène ; mais dès maintenant elle mérite d'être utilisée ou, au moins, d'être essayée sur une grande échelle.

CHAPITRE V

DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

C'est le seul but de l'intervention du vétérinaire, à son début. Il doit non seulement constater l'avortement, chose facile, mais en préciser la nature infectieuse et chercher à déterminer l'agent en cause.

La différenciation de *brucella abortus* d'avec les agents de pouvoir pathogène voisin pour les bovidés, est généralement réalisable par les procédés expérimentaux que nous avons exposés. Il faut faire une exception pour le germe le plus proche : le *mélitensis*.

Les relations des microbes de la fièvre de Malte et de la brucellose bovine sont importantes à de multiples points de vue, aussi nous permettrons-nous de les étudier avec quelques détails.

MELITENSIS ET ABORTUS.

Ces deux microbes font aujourd'hui partie du même genre *Brucella*.

Ils ont été décrits pour la première fois, l'un par le Major anglais Bruce, en mission dans l'île de Malte en 1887, l'autre par le Professeur Bang de Copenhague, en juin 1896. — Ils ont d'abord été connus sous les noms respectifs de *micrococcus melitensis* et de *bacillus abortus* ou bacille de Bang.

En 1905, Zammit, à Malte, voulant expérimenter sur des chèvres, découvre que ces animaux, en apparence sains, sont déjà, pour la plupart, parasités par le microbe qu'il étudie. Il prouve en même temps qu'ils sont les principaux agents de transmission de la fièvre ondulante.

Des analogies, portant sur les caractères bactériologiques et le pouvoir agglutinant des deux germes qui nous intéressent, ont été signalées dans le rapport de la « Commission Anglaise pour l'étude de la fièvre de Malte », en 1905, dans les travaux de Shaw en 1906, de Hock en 1907, de Mac Fadyean en 1913, de Kennedy en 1914.

En 1918, Miss Alice Evans montre l'étroite parenté de ces deux agents. Dès lors de nombreux savants se mettent à vérifier les faits : les expériences affluent, leurs résultats sont des plus variés et les avis souvent opposés.

POINTS COMMUNS.

Ces microbes ont des caractères morphologiques et culturels semblables.

Le mélitensis peut se présenter comme l'abortus en cocci ou en courts bacilles. Tous deux ont une culture délicate.

Abortus s'arrange mieux de conditions atmosphériques spéciales. Certains prétendent qu'il pousse plus facilement que le mélitensis en eau peptonée additionnée de 1% d'acides organiques, tels que les acides fumariques, muciques, etc... Ces différences s'effacent rapidement au cours des repiquages et n'existent pas pour toutes les variétés.

Les modifications dues au vieillissement des souches sont absolument les mêmes dans les deux cas.

Leurs propriétés biochimiques et biologiques sont identiques :

Même alcalinité, même formation d'ammoniaque à partir de l'urée, même décomposition de l'asparagine, même inactivité pour le glucose, le saccharose, le maltose, la mami-te, etc...

Leur inoculation aux animaux de laboratoire provoque les mêmes infections chroniques apyrétiques qui évoluent vers une pseudo-tuberculose identique.

Burnet a montré que la cobaye infecté par abortus ou mélitensis, réagit aussi bien à l'épreuve de la mélitine qu'à celle de l'abortine. Chez l'homme d'ailleurs, le diagnostic de la fièvre ondulante peut se faire indifféremment, avec l'un ou l'autre réactif.

Le sérum des animaux infectés par l'un, agglutine les deux à des taux semblables ou très voisins. Dans la pratique, les réactions sérologiques ne les différencient pas, aussi pour le diagnostic de la mélitococcie, l'antigène est-il aujourd'hui toujours fourni par l'abortus, moins dangereux pour le bactériologiste parce qu'infectant beaucoup plus difficilement l'Homme.

La ressemblance apparaît plus étroite encore, si l'on considère les résultats de la vaccination croisée. Ficaï a démontré la possibilité de l'appliquer à l'homme et au singe, après que Burnet eût constaté leur résistance au mélitensis à la suite d'une injection d'abortus.

Il faut noter le bénéfice des vaccinations répétées sur les bactériologistes ou les personnes particulièrement exposées à la contamination, avec une émulsion vaccinale de mélitensis ou d'abortus, qui donnent des résultats identiques.

DIFFÉRENCIATION.

Selon Duncan, si les brucella ne peuvent pas être diffé-

renciées sur gélose simple ou glucosée elle peuvent l'être sur gélose au sang peptoné : abortus est en bacilles 3 à 4 fois plus longs que larges, tandis que mélitensis est en cocci.

Favilli et Bonicelli estiment qu'une souche du premier, même âgée de cinq mois et demi, se développe bien en culture sur gélose, alors qu'une du second pousse plus mal ou même est morte. Pour Legezinski, ils ne se distinguent que par la microaerophilie.

Facai a signalé que la température de la destruction des agglutinines serait différente : de 75° pour abortus, elle ne dépasserait pas 65° pour mélitensis. Par contre, Proscholdt a montré que l'abortus était détruit par un chauffage de 60 à 65° pendant une demi-heure.

Chas Murray, SMc Nutt et Paul Purvin ont établi, ces derniers temps, avec beaucoup de précision, qu'une pasteurisation à 62 - 63° pendant trois minutes était suffisante pour détruire la brucella de souche bovine ou porcine. Ils ont signalé en outre l'influence considérable des conditions dans lesquelles est obtenue l'élévation de température, en insistant sur l'importance du modèle de pasteurisateur employé, et, surtout, sur le mode de régulation de la pression.

Domingo et Lopez ont donné, comme procédé de différenciation, l'action de la bile sur les propriétés agglutinantes de ces agents ; mais Tapia et Martin de Nicolas n'ont pas trouvé de différence marquée.

Selon, Feusier, Meyer, Poletini, A. C. Evans, etc... on pourrait les reconnaître, à coup sûr, par la pratique de la réaction d'agglutination après « saturation » ou « absorption » des agglutines. Ce procédé consiste à absorber les

anticorps spécifiques d'un sérum malade par une quantité convenables de bacilles. On recherche ensuite les agglutinines secondaires ou résiduelles dont on mesure la quantité. On essaie différentes souches avec le sérum soumis à « l'absorption », on classe ensemble celles qui se comportent de la même façon.

D'après ces auteurs on pourrait arriver, en multipliant les épreuves, à une classification sérologique des brucella.

Cette méthode semble donner des résultats, mais elle est très délicate et ne repose que sur les propriétés peu importantes des agglutinines secondaires. De plus, il ne faut pas oublier qu'il existe des races de brucella qui se différencient des types mélitensis ou abortus, dont elles ont toutes les propriétés pathogènes, par ce fait qu'elles jouissent de propriétés antigènes spéciales, provoquant dans l'organisme infecté, la formation d'agglutinines strictement spécifiques. Elles n'agissent pas sur les brucella types et réciproquement les agglutinines de mélitensis et l'abortus ne donnent rien avec ces races.

Ce fait, bien connu pour le premier de ces agents, est tout aussi vrai pour le second, comme le prouvent les travaux de Gilbert, Mac Arthur, Wigmore, etc...

José Vidal et R. Abella ont essayé les diverses méthodes que nous venons de voir. Aucune ne leur a permis de reconnaître l'origine des germes. D'après ces auteurs c'est l'addition de bile qui donnerait les meilleurs résultats, mais avec une inconstance décourageante.

Sans adopter la classification qui donne comme mélitensis toutes les souches pathogènes pour l'espèce humaine et comme abortus toutes celles qui, soi-disant, ne le sont pas, sans souci de leur origine, il faut admettre que c'est

encore leur virulence qui sépare les brucella avec le plus de netteté.

Nous avons vu plus haut comment il fallait interpréter cette différenciation, avec les cas de plus en plus fréquents, de transmission de la brucellose animale à l'espèce humaine. Il est aujourd'hui certain que l'abortus de souche bovine ou porcine est, à un certain degré, et dans des circonstances particulières, pathogène pour l'homme.

D'autre part, il a été prouvé expérimentalement que le mélitensis peut infecter les bovidés et se comporter comme un abortus.

Miss A Evans inocule dans la veine d'une vache en gestation un tube de culture d'une brucella isolée de l'homme ; quarante-cinq jours plus tard l'animal avorte, après cinq mois et demi de gestation. Le microbe est retrouvé dans le contenu stomacal, le liquide péritonéal de l'avorton et le colostrum.

Carpenter injecte de la même façon 10 cc d'une dilution, en eau physiologique, d'une culture de mélitensis à 5 génisses pleines ; elles avortent du 5^e au 20^e jour après l'inoculation. Le germe est mis en évidence dans le colostrum, le placenta et le fœtus.

La virulence des souches microbiennes pour le singe étant couramment considérée comme un témoin de leur pouvoir pathogène pour l'espèce humaine, il était logique que les expérimentateurs s'adressent à lui.

Le mélitensis est très virulent pour cet animal. Une faible dose (5.000 microbes) suffit souvent à déterminer chez celui-ci une maladie analogue à celle observée chez l'homme. Dans quelques cas, l'infection ne se déclare pas mais le

sang renferme des agglutinines et les tissus recèlent l'agent inoculé.

D'après F. Meyer et B. Eddre, à la suite d'une réaction de cette nature, les animaux résistent à l'ingestion des cultures très virulentes.

Burnet rapporte que deux volontaires et deux singes, ayant reçu sans dommage, une inoculation de trente à deux cents millions de *brucella abortus*, ont résisté à l'épreuve faite avec le *mélitensis* ; le contrôle par hémoculture a montré qu'aucun d'eux n'était atteint de *mélitococcie*. Ces résultats mettent en lumière la valeur de la vaccination croisée et un fait que l'on a paru oublier dans l'interprétation de certaines expériences : la faible sensibilité naturelle du singe aux *brucella*.

A ce propos F. Meyer et B. Eddre signalent que toutes les races de cette espèce animale ne sont pas sensibles à l'infection, loin de là, et que, parmi celles qui le sont, une proportion importante de sujets a une immunité très solide vis-à-vis de la contamination digestive.

Si l'on en croit les expériences de nombreux auteurs, notamment de Burnet, avec *Abortus* il faut donner des doses massives, dépassant 16 milliards de corps microbiens, pour obtenir une maladie. Les symptômes cliniques sont alors peu appréciables et on ne peut généralement établir l'existence de l'infection que par la recherche du pouvoir agglutinant dans le sérum et l'ensemencement de substance organique convenablement choisie.

Fleischner, Vecki, Shaw et Meyer ont montré, en 1921, que l'*abortus* peut produire chez le singe une maladie identique à celle que provoque le *mélitensis*.

Forest Huddleson et E. T. Halleman reprennent ces expé-

riences en 1929 et aboutissent aux mêmes résultats. Ils font remarquer cependant qu'avec des cultures d'origine bovine, l'infection peut ne pas se produire ou être très lente.

D'après ces auteurs les singes sont, par contre, particulièrement sensibles aux souches porcines de l'abortus, pour eux plus virulentes que le mélitensis. La différenciation par le singe est donc loin d'être aussi nette que l'on avait cru tout d'abord.

Notons, à côté de ces résultats, pour le moins inattendus, que Gilbert a signalé en Palestine une brucella dont la virulence serait l'intermédiaire de celle du mélitensis et de l'abortus ; que la méthode de l'absorption des agglutinines a permis de différencier, en Amérique, jusqu'à huit variétés de brucella.

Ces faits, les expériences nombreuses tentées dans le monde entier pour reconnaître l'origine des germes brucelliques ; les résultats souvent contradictoires obtenus ; la maladie que provoquent, chez l'homme, les deux microbes avec des symptômes d'intensité variable, suivant le pays et les conditions d'infection, nous amènent à adopter l'explication de ceux qui pensent que le mélitensis et l'abortus constituent, non seulement un même genre brucella, mais qu'ils appartiennent à une seule et même espèce microbienne.

CONSIDÉRATIONS.

Il faut compter en médecine avec la grande complexité des phénomènes biologiques. On sait combien les microbes sont sensibles à tel ou tel milieu dans lequel ils peuvent abaisser ou exalter leur virulence. L'agent de la péripleu-

monie contagieuse, suivant que le milieu sur lequel il est cultivé est additionné de sérum de bœuf, de mouton ou de cheval, n'est-il pas virulent ou non pour le bœuf, le mouton ou pour les deux.

Mélitensis et abortus ne seraient que le résultat de l'adaptation de la souche originelle capable d'infecter l'homme et de nombreux animaux, et qui aurait acquis, dans chaque organisme, une action pathogène différente.

Le passage chez les bovins, sans modifier son pouvoir vis-à-vis de l'espèce infectée ou de la chèvre, aurait pour effet d'atténuer sa nocivité pour l'homme et le porc.

Chez ce dernier, il semble que son agressivité pour l'espèce humaine subit une augmentation sensible et rapide, alors qu'elle baisse pour la vache.

La vie chez la chèvre exalterait certains côtés de sa virulence ; elle deviendrait alors très pathogène pour l'homme sans modifier son pouvoir vis-à-vis des espèces animales.

D'après Violle, des expériences auraient prouvé que cet animal serait un transformateur de virulence remarquable, un intermédiaire précieux à l'exaltation de ce microbe, anodin pour l'homme tant qu'il provient directement des bovins. Cependant il paraît maintenant certain qu'il y a des souches bovines pathogènes pour le genre humain, sans qu'on ait pu mettre en évidence l'agent de liaison caprin, ne serait-ce que dans les pays où l'on ne rencontre pas cet animal, comme la Scandinavie et certaines régions de l'Afrique du Sud.

On peut encore quelquefois voir là l'effet du passage même temporaire, du germe chez une espèce voisine, le porc par exemple. Ceci ne peut être invoqué pour l'Afrique du Sud.

Il ne faut pas oublier qu'une race de microbes non pathogène pour une espèce peut le devenir sous l'effet de diverses causes.

L'abortus n'est pas dangereux pour l'homme, dans telle ou telle région du monde, mais, sous l'influence de facteurs mal déterminés, il peut acquérir un certain degré de virulence. Il ne provoque pas encore de maladie chez l'être humain, mais il le parasite. Ceci est indiscutablement très fréquent ! Des passages de cette race se font d'homme à homme, la nocivité du microbe, petit à petit, s'accroît. Il arrive à déterminer des troubles : une nouvelle race est créée, provoquant une nouvelle maladie.

Une telle exaltation de virulence est chose courante dans l'histoire des maladies infectieuses.

Expérimentalement on a recours à un procédé analogue ; on augmente le pouvoir pathogène du virus rabique, en l'inoculant au lapin, celui du bacille du rouget en l'injectant au pigeon.

La méthode des « passages » qui rend d'appréciables services au bactériologiste, n'a pas été mise par la nature à la seule disposition des laboratoires : elle-même en fait de fréquents usages.

Il faudrait admettre que les infiniments petits sont aussi des infiniments complexes :

On y trouverait, à côté de la « mosaïque » d'antigènes, une « batterie de crochets », chacun de ceux-ci étant spécialisé et figurant, pour le germe, la possibilité de s'adapter à une micelle colloïdale, une humeur particulière.

1°) Un groupe, ne comprenant qu'une partie de ces crochets, représenterait pour le micro-organisme, la possibilité de se fixer dans un tissu donné, de proliférer sur un

sujet plutôt que sur un autre, en un mot un pouvoir pathogène bien défini de ce microbe.

2°) Toute modification de la virulence serait marquée par des changements dans la forme, le nombre et la nature des crochets.

3°) Le développement de ceux-ci, lié à la composition des humeurs, soumis aux conditions d'espèce, de race, d'individu, de climat, pourrait subir d'importantes variations.

4°) Le pouvoir pathogène pour un être donné serait proportionnel au développement du groupe correspondant, dont la composition resterait identique pour un tissu donné. La mise à contribution répétée de ces « crochets » aurait normalement pour effet, le travail créant l'organe, d'en augmenter la puissance. Inversement, l'inactivité continue les atrophierait. Cette évolution serait, de plus, sous la dépendance de la composition du milieu. Si ce dernier est indifférent, les deux phénomènes se poursuivent au ralenti ; s'il est favorable aux uns, néfaste aux autres, les premiers se développent bien, tandis que les seconds s'étiolent de même. Ces mutations seraient très rapides en présence de certaines substances particulièrement favorisantes.

Ceci justifierait la stabilité de la virulence d'un microbe pour certaines espèces, ses variations brusques et inexplicables pour d'autres, les augmentations, les atténuations obtenues par la méthode des passages.

6°) Les mêmes éléments pourraient se retrouver dans les groupes correspondants à des espèces ayant des tissus de composition semblable.

Chez la chèvre on trouverait de nombreux « crochets » du

groupe de la brucella humaine. Il n'y aurait pas de dégénérescence sensible des éléments voisins.

Dans le groupe porc, il resterait la majeure partie des éléments de l'homme et cette fois, la série bovine s'atrophierait.

Chez la vache, à côté de l'étiollement des « crochets » humains et porcins, il y aurait persistance d'une certaine proportion des caprins.

LES BRUCELLA

Les brucella si malléables morphologiquement le seraient aussi quant à leurs fonctions antigènes et leurs propriétés pathogènes ?

Des souches dont la virulence est loin d'être semblable, peuvent avoir une morphologie et des propriétés agglutinantes identiques. D'autre part, des variétés ayant un même pouvoir pathogène peuvent différer quant à leur pouvoir agglutinant, les variations de celui-ci vont de la simple facilité en plus ou en moins à l'absence de tout phénomène, comme c'est le cas pour les souches improprement appelées, par Nègre et Reynaud, paramélitensis.

De telles divergences, si elles sont moins fréquentes et moins connues pour l'abortus, n'en existent pas moins en dépit de certains avis. Des auteurs ont pu dire, en toute bonne foi, que les résultats de l'agglutination étaient les mêmes avec des antigènes d'une seule ou de plusieurs souches. Ils ont tiré des conclusions beaucoup trop générales d'expériences restreintes, pour lesquelles ils avaient employé des brucella de pouvoir agglutinant très voisin.

Il existerait une brucella unique, mais douée d'un grand polymorphisme. Des mutations, d'orientation dis-

tincte, multiplieraient considérablement le nombre des variétés de ce microbe. On pourrait les classer en trois tableaux suivant que les modifications auraient porté :

1°) Sur les caractères morphologiques et culturaux.

2°) Sur la composition des antigènes et par conséquent la nature des anticorps.

3°) Sur le pouvoir pathogène.

La première de ces catégories n'offrirait aucun intérêt. Il en serait à peu près de même de la seconde à laquelle aboutirait la méthode de l'absorption des agglutinines proposée par les Américains.

Seule la classification basée sur les différences du pouvoir pathogène est intéressante.

En l'état actuel de nos connaissances, il n'est plus possible de la réduire au critérium qui voit en toute brucella pathogène pour l'homme un mélitensis.

On peut distinguer des brucella melitensis, bovis, suis, etc... comme il y a des bacilles de Koch humain, bovin, porcine, aviaire ; ou simplement des brucella A. B. C. D... de la même façon que l'on différencie les virus aphteux ; ou encore, des variétés 1, 2, 3... 8, 9, 10. Les premières étant les plus virulentes pour l'homme, celles que l'on a l'habitude d'appeler mélitensis ; les dernières, les moins dangereuses pour notre espèce, seraient en l'occurrence celles qui nous intéressent : l'abortus des bovidés.

CONCLUSION

Qu'importe la classification des brucella !

Retenons seulement que les nombreuses variétés de ces microbes ne peuvent être couramment et pratiquement différenciées. Ajoutons à cela le fait aujourd'hui bien établi,

de la possibilité d'infection de l'homme par des souches animales, bovines en particulier, de ces microbes, nous concluerons avec Violle : « Qu'il est hors de doute que l'extension de la Fièvre ondulante d'origine caprine sera suivie dans toute l'étendue de la France, comme l'indiquent déjà quelques observations, de l'extension de la même maladie d'origine bovine, sans qu'il soit ultérieurement possible de reconnaître l'origine de telle ou telle brucella par suite de ces échanges, de ces mutations provoquées par les contacts continus, la promiscuité étroite, les relations permanentes entre l'homme et les bovidés ».

Il n'y aura plus qu'une brucellose, à symptômes variés, due à une seule espèce de brucella dont on s'efforcera, hélas, souvent sans succès, de différencier les multiples variétés !

CONCLUSION

La Brucellose bovine est une maladie importante.

- 1°) Par les pertes très lourdes qu'elle fait subir à l'élevage
- 2°) Par le pouvoir pathogène de son agent, susceptible d'infecter l'homme et de nombreux animaux. Pour l'espèce humaine la virulence des brucella de souche bovine, nette en certains pays, paraît présentement très faible en France, mais elle peut augmenter et le fera vraisemblablement.

Ces menaces sont accrues :

a) par les difficultés considérables que l'on éprouve à combattre cette maladie lorsqu'on la reconnaît. En effet :
— Tous les médicaments essayés jusqu'à présent se sont montrés inefficaces.

— La vaccination est sans action ; la prémunition est dangereuse si on l'emploie à coup sûr et criminelle lorsque, comme cela arrive malheureusement trop souvent, sa mise en œuvre n'est basée sur aucun diagnostic précis.

— La prophylaxie par l'isolement est intéressante, mais imparfaite, onéreuse et inapplicable dans de nombreux cas.

b) par l'absence de procédé susceptible de déceler individuellement et à coup sûr tous les animaux infectés.

A CE PROPOS

Le diagnostic clinique ne doit pas être délaissé, mais

il demande souvent à être complété, toujours à être confirmé.

Le diagnostic bactériologique, trop inconstant et ne permettant de conclure avec certitude que devant un résultat positif, ne peut être utilisé pour rechercher pratiquement la maladie.

Le diagnostic par inoculations subit les conséquences de l'irrégularité de la présence des microbes dans les humeurs et les tissus organiques. De plus l'obtention du résultat demande plusieurs mois et il faut multiplier les épreuves. Ce procédé est intéressant à conjuguer avec le précédent dans certains cas exceptionnels et pour les recherches de laboratoire. Pour la lutte contre la maladie il est indiscutablement le moins pratique.

L'abortoscope de Bévan et l'hémoagglutination, perdant en précision ce qu'ils gagnent en célérité, ne paraissent pas encore devoir réduire à l'inaction les services de diagnostic bien organisés.

La séroagglutination macroscopique rapide n'est pas plus sensible ni plus exacte que la méthode lente, dont elle est tirée. Son principal avantage, la rapidité de la réponse, disparaît dès que l'on doit effectuer un nombre important d'épreuves. Celui de sa possibilité de mise en œuvre par le praticien a peut-être une grande valeur pour des pays très étendus comme les régions d'élevage des Etats-Unis ; il ne peut compenser pour nous l'inconvénient de l'accomplissement d'un travail délicat par des opérateurs, certes très habiles, mais non spécialisés.

La séroagglutination microscopique rapide est un bon procédé de laboratoire, inutilisable pour les diagnostics en série. Les manipulations qu'elle exige réduisent sensible-

ment le nombre des sérums qu'un opérateur peut examiner. Elle est susceptible de rendre des services pour le contrôle de certains résultats douteux, pour l'étude de la vitesse d'agglutination ; enfin elle permet l'examen des échantillons hémolysés.

La déviation du complément est une des méthodes qui donnent les résultats les plus satisfaisants. A ce point de vue elle est comparable à la séroagglutination lente. On la délaisse aujourd'hui de plus en plus parce que sans paraître présenter sur cette dernière aucun avantage, elle est plus compliquée, plus longue et plus délicate à mettre en œuvre.

La séroagglutination lente reste toujours le procédé de choix pour déterminer l'état sanitaire général d'un troupeau. Imparfaite, elle n'est malheureusement pas aussi sûre pour le diagnostic de l'infection individuelle. Elle peut cependant servir de base à un système prophylactique efficace, à condition de multiplier les épreuves et de les associer à un diagnostic clinique sérieux. Le laboratoire doit se contenter, en indiquant au vétérinaire la façon d'interpréter la réaction, de lui fournir les éléments du diagnostic.

L'intradermo abortionation serait évidemment le procédé de choix. Elle permettrait au praticien d'apprécier la réaction en tenant compte des conditions cliniques. Malheureusement, il n'a pas encore été possible de mettre au point un réactif donnant des résultats constants. Il semble que l'on pourra, en multipliant les recherches de ce côté, en tirer une méthode exacte, susceptible de supplanter les procédés sérologiques en tant qu'arme prophylactique.

Quoiqu'il en soit, en attendant que les chercheurs voient

leur tenacité récompensée et trouvent le moyen de diagnostic de la brucellose bovine, simple et essentiellement pratique, qu'attend la profession, il faut lutter contre cette maladie en recourant fréquemment et sans hésitation au sérodiagnostic lent.

Vu : le Doyen,
BALTHAZARD.

Vu : le Président,
A. LEMIERRE.

Vu et permis d'imprimer.

Le Recteur de l'Académie de Paris :
CHARLÉTY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ALESSANDRO. — Maladie de Bang en Argentine. *La Semena Medica*. Avril 1930.
- MC ALPINE, W. PLASTRIDGE et C. BRIGHAM. — Sur le métabolisme du groupe abortus melitensis. *J. of. inf. discates*, 1929.
- MC ALPINE, C. A. SLANETZ. — *J. of. inf. diseases*, 1928.
- ANANIADÉS et N. MIAOULIS. — L'avortement épizootique des brebis en Grèce. *Revue gén. de Méd. vétér.*, décembre 1931.
- AMOSO et POSTON. — Cultures de Brucella. *J. of A Vet y. Méd. Ass.*, juin 1930.
- F. ARLOING et L. LANCERON. — Filtrolabilité et filtrostabilité, applications à la séparation des agglutinines.
- MC ARTHUR et F. WIGMORE. — Brucella abortus dans l'urine. *Brit. Méd. Jour.* mai 1930.
- BAIRD E. R. — Quelques maladies transmises à l'homme par le lait. *J. of. A Vét. y. Méd. Ass.*, Avril 1931.
- BANG. — Brucellose bovine. *Deut. tier. Wochens*, p. 38-808, 1930.
- BANG O. et BENDIXEN. — Brucella abortus dans le lait des vaches ayant avorté. *Med. ford. dans. dyrl*, 1928.
- A. BAUDOIN et H. BERNARD. — Un nouvel appareil néphélémètre spectroscopie différentiel. *Bull. de la Soc. Méd. des Hop. de Paris*, 17 février 1922.

- BÉVAN. — Une méthode rapide de sérodiagnostic de l'avortement infectieux des Bovidés. *The Vet y. Jour.* février 1928.
- BIGGER. — Brucellose. *J. of A. Vet. y Med. Ass.*, août 1931.
- BOYD, DELEZ et FITCH. — B. abortus dans l'hygroma du genou des bovidés. *The corn vét.*, juillet 1930.
- BURNET. — Comptes-rendus de la Soc. de Biol. 1924.
- MC CAPES. — Le contrôle de la maladie de Bang dans les troupeaux. *J. of A Vet. Méd. Ass.*, février 1932.
- CARPENTER et BAKER. — Brucella abortus dans le lait. — *The Corn veter.*, août 1927. *Revue gén. de Méd. vét.*, mars 1928.
- CARPENTER et P. BOAK. — Fièvre ondulante, diagnostic au laboratoire. *J. Lab. and clin Medic.* 1930, p. 487.
- L. COMINOTTI. — Excrétion de bacilles abortus par la mamelle de vaches après inoculation de cultures vivantes de ce microbe. *Deut. tier. Wochens.* Juillet 1931 .
- COMMITTEE of BANG'S disease. — Recommandations pour une technique uniforme d'agglutination. *Jof A Vet y Méd. Ass.*, Mars 1932.
- COOLEGE. — L'épreuve de l'agglutination, moyen d'étude de la présence de bacilles abortus dans le lait. *J. of Agric. Research.* Février 1916.
- W. E. COTTON. — Avortement infectieux des bovins, du porc et du mouton aux Etats-Unis. — Rapport du XI^e Congrès I de Méd. vét., Londres, 1930.
- COTTON et BUCK. — Recherches sur l'avortement épizootique. *J. of A. Vet y. Méd. Ass.* Mars 1931.
- COURTEHOUS. — Thèse vétérinaire, Paris 1931.

- DAMON. — Sérodiagnostic de l'avortement épizootique. — J. of A Vét y Méd. Ass. décembre 1929.
- DARSIN E. — Le sérodiagnostic de la maladie de Bang d'après les recherches faites en Lettonie. Zlb. für Bakt, 1930, p. 115.
- DONMIGNY. — Avortement épizootique. Revista de l'Hygiène. Novembre 1930.
- DOMINGO et LOPER. — Bacille de Bang et Micrococcus de Bruce : différenciation. C. R. Soc. Biol. Barcelone n° 10, mars 1925.
- DOPTER et SACQUÉPÉE. — Précis de bactériologie.
- CH. DUBOIS. — La gravité économique de la mélitococcie ovine et les dangers de sa transmission à l'homme. Revue gén. de Méd. Vét., novembre 1931.
- DUBOIS et SOLLIER. — Brucellose animale. Revue d'Hygiène et de Méd. prévent., Juin 1931.
- DUNCAN. — Brucella abortus de source humaine.
- B. EDGINGTON et A. BROERMAN. — La double intradermo pour le diagnostic de l'avortement épizootique. J. of A Vét. Méd. Ass., février 1930.
- A. V. EULER. — Stérilité et avortement. Berl Tier. Wochens, p. 46, 1930.
- A. C. EVANS. — Analogies de mélitensis et d'abortus. J of inf diseases, 1918.
- A. C. EVANS. — Fièvre ondulante. The A. J. of Nursing, vol. XXX, novembre 1930.
- FAVILLI et BONICELLI. — Cultures de brucella abortus. Lo-spérimentale, 1928, n° 3 et 4.
- FETHERS. — Avortement des bovidés. Austral Vet. J. 1929.
- FITCH, DELEZ et BLOYD. — Durée de l'élimination de ba-

- cillus abortus par les mucosités vulvo-vaginales.
J of A Vet y. Méd. Ass., mai 1930.
- FITCH, DONHAM et L. BISHOP. — Diagnostic de la brucellose.
Proc. soc. Exp. Biol. and Médecine, mars 1930,
p. 553.
- FITCH, L. BISHOP et W. BOYD. — Bacillus abortus dans les
fistules et les maux de garrot. — J of A Vet y
Méd. Ass. Mars 1932.
- FLEICHNER, VECKI, SHAW et MEYER. — Pouvoir pathogène
des brucella d'origine bovine et porcine. J. of
inf diseases, mars 1932.
- FRITZ et BARRY. — Contrôle de la maladie de Bang. J. of
A Vet y Méd. Ass. avril 1930.
- S. J. GILBERT. — Avortement de la vache en Palestine. —
The J. of comp. Path. and Thérap., juin 1930.
- GILMAN, L. HERBERT. — Le taux d'agglutination indicateur
de la présence de B. abortus dans le sang. Soc.
of Americ Bacter., janvier 1931.
- GRAHAM et THORP. — Diagnostic de la brucellose bovine.
J. of inf diseases, 1930, p. 266.
- GRAHAM R. et THORP. — Agglutinations lente et rapide. J.
of A Vét. y Méd. Ass. Mai 1930.
- GREECH. — Brucellose du bison. The north Am Vét., jan-
vier 1930.
- GWATKIN. — Séroagglutination macroscopique rapide. J. of
A. Vét. y Méd. Ass., janvier 1931.
- GWATKIN. — Bactériophage contre la brucella. J of A Vet y
Méd. Ass., août 1931.
- HABS et HORST. — Brucella abortus et mélitensis et les co-
lorants. Zentral. für Bakt, 1930, p. 89.
- F. HADLEN et W. WELSH. — Sur la persistance de la réaction

- d'agglutination pour brucella abortus. The Corn. Vet., juillet 1931.
- HADLEY et HAWN. — Influence de l'alimentation sur l'avortement contagieux de la vache. J of A Vet y Méd. Ass., mars 1930.
- A. HARDY et M. G. HUDSON et C. V. JORDAN. — La peau comme porte d'entrée du mélitensis. J. of inf diseases, 1929.
- HASLEY. — Brucella abortus dans le lait « certifié ». J of inf diseases, 1931, p. 430.
- H. HASSELTINE. — Récents progrès de l'étude de la Fièvre ondulante. Public Health Reports, juin 1930, n° 29.
- C. HEGEN. — Sur la pathogénie de l'infection de l'homme par brucella abortus de Bang. Kein Wochens, septembre 1930, n° 36.
- HERBERT et L. GILMAN. — Nouvelles études sur la relation du pouvoir agglutinant du lait et l'élimination de « bact. abortus » par la mamelle. — The Corn. Vét., Juillet 1931.
- HODOSY. — Affinité de brucella abortus pour les testicules. Revue gén. de Méd. Vétér., octobre 1929,
- H. HOLTH. — Avortement contagieux. Rapport du II^e Congrès I de M. Vétér., Londres, 1930.
- HOLTUM. — La double intradermo dans le diagnostic de l'avortement contagieux. J of Comp. path. and Thérap., mars 1928.
- F. HUDDLESON et R. CARLSON. — Méthode rapide pour le diagnostic de l'avortement par le bacille de Bang. J. of A Vet y. Méd. Ass., novembre 1926.
- F. HUDDLESON et ELISABETH ABELL. — Séroagglutination ra-

- pide pour le diagnostic de l'avortement par le bacille de Bang. J of inf diseases, 1928, tome I.
- F. HUDDLESON et E. T. HALLMAN. — Le pouvoir pathogène des différentes brucella pour le singe. J of inf diseases, 1929.
- F. HUDDLESON et JOHNSON. — Brucellose humaine. J of A Vet y. Med. Ass., décembre 1930.
- HUGOT. — Avortement épizootique de l'espèce bovine, sa prévention, Thèse vétérinaire, Paris, 1927.
- JESSNER. — Recherches sur l'élimination du bacille de Bang par le lait. Thèse vétérinaire, Paris, 1931.
- KARSTEN. — Sur le diagnostic de l'avortement épizootique par la recherche des agglutinines et la déviation du complément dans le lactosérum. Deut. Tierärz. Wochens., septembre 1931.
- KINSLEY. — Fièvre ondulante aux Etats-Unis. J of A Vet. y Méd. Ass., mars 1931.
- KLIMMER. — Brucella abortus dans le lait. Revue générale de Méd. Vétérinaire, octobre 1931.
- JOSEPH KOHN. — Stérilité et avortement infectieux. Berli. Tierärz. Wochens., 1930, p. 1417.
- KRAF. — Brucella abortus dans le lait. Arch. de la Soc. de Biol., 1930, vol. XXX.
- H. L. LANG. — Une infection de l'homme par Brucella abortus traitée par la vaccination. — Mediz. Klinik, 1930, p. 236.
- LERCHE. — Brucella abortus dans le lait. Revue générale de Méd. vétérinaire, octobre 1931.
- LERCHE et SCHUMANN. — Brucellose bovine. Berli, Tierärz. Wochens., janvier 1930.
- LOTHE et HERBERT. — Le contrôle et la lutte contre l'avor-

tement contagieux des vaches. J of A Vet y. Méd. Ass., octobre 1925.

LUNDBERG et RAGNAR. — Réactions sérologiques après injections sous-cutanées, à plusieurs reprises, de *Brucella abortus*. Skand, Veter, Tidsk, 1931.

A. LUSTIG. — Analogies entre les agents de la fièvre ondulante et de l'avortement contagieux des bovidés. Zlb. für Bakt. 1930, p. 115.

H. MAGENDANTZ. — Infection de l'homme par *brucella abortus*. Medizin, Klinik, 1930, p. 236.

MALLANDO. — *Brucella abortus* et *brucella mélitensis*. J. of tropical Medic. and Hyg., 1930, p. 125.

MATERNOWSKA. — Nouvelle méthode de coloration de *brucella abortus*. Zeutlb. für Bakt. 1930, p. 442.

K. F. MEYER et B. EDDRE. — Nouvelles recherches sur la pathogénie de *brucella abortus* et *mélitensis* chez le singe. Proc. soc. for exper. biol. and Medic., décembre 1929, p. 214.

MEYN et WEISKE. — *Brucella abortus* dans le lait. Revue générale de Méd. vétérinaire, octobre 1931.

H. MIESSNER et R. BERGER. — Méthode rapide d'agglutination pour le diagnostic de la brucellose. Deut. Tierä, Woch, 1930, n° 26.

MIESSNER et S. SCHUTT. — Technique de l'hémoagglutination rapide dans la brucellose. Dent. tierä, Woch., 1931.

MITCHELL et DUTHIE. — Brucellose bovine. Cana. J. Research, 1930, p. 403.

MITCHELL et HUMPHREYS. — Brucellose des bovidés. The Corn. vét., janvier 1930.

- A. MITCHELL. — L'infection de la mamelle par brucella abortus. The Corn. vét., mai 1931.
- CHAS. MURRAY, MC NUTT et PAUL PURVIN. — Les résultats de l'agglutination dans les fermes où l'on trouve de la fièvre ondulante. J of A Vet y Med. Ass., mars 1931.
- R. MOUSSU. — Sur la prophylaxie et la pathogénie de l'avortement des bovidés. Recueil de Méd. vétér., juin 1931.
- J. NIDAL MUNNE. — Avortement contagieux et fièvre ondulante. Revista de Hyg. y Sanid. Pé, novembre 1929.
- M. NORDMAN. — Réactions locales sur les animaux sensibilisés. Physiol. Reviews, janvier 1931, vol. XI.
- PABLO, MORALES UTERO. — Brucellose à Porto-Rico. The Porto-Rico J. of Public Health and Trop. Medic., septembre 1930.
- M. PANISSET. — Hygroma dû à brucella abortus. C. R. à l'Académie vétérinaire, février 1931.
- PANISSET et VERGE. — Diagnostic de l'avortement épizootique des juments. C. R., Soc. de Biologie, mars 1926.
- PANISSET. — Rapports des microbes de la fièvre méditerranéenne et de l'avortement épizootique. Revue générale de Méd. vétér., juin 1923.
- PANISSET. — L'infection de l'homme par le bacille de Bang, Cahiers de Méd. Vétér., décembre 1929.
- PANISSET. — Etude bibliographique sur quelques données nouvelles relatives à l'avortement épizootique. Cahiers de Méd. vétér., avril 1932.

- PALTRINIERI. — Recherches sur les méthodes de différenciation des brucella. La revue vétér., décembre 1931.
- J. PLANZ et F. HUDDLESON. — Brucellose chez un chien. J. of the A. Vet y. Méd. Ass., août 1931.
- POELMA. — Séroagglutination. The corn. vétér., juillet 1930.
- PRAUSNITZ. — Infection de l'homme par bacillus abortus. Mediz. Klinik, janvier 1929.
- PROSCHOLDT. — Sur la présence des bacilles de l'avortement dans le lait. Zeits. für fleisch and Milch hyg. mai 1929.
- A. RANQUE et CH. SENEZ. — Diagnostic bactériologique de la melitococcie. J. Méd. Français, mai 1929.
- REBOULEAU, PLACIDI et VERGE. — Avortement à brucella abortus chez la truie. Bull. de la Soc. de Méd. Vétér. pratique, septembre 1931.
- RICH. — Brucellose des bovidés. The corn Vet n, janvier 1931.
- RINJARD. — L'avortement épizootique au cours de la maladie de Bang. Revue de zootech., 1926, n° 5.
- RINJARD et HILGER. — Le bacille de Bang dans les maux de garrot. Bull. de l'Académie Vétér., juillet 1928.
- R. RUMMELS, C. J. COON, H. TARLEY et F. THORP. — Une application de la méthode rapide d'agglutination au diagnostic de la diarrhée blanche bacillaire. J. of A Vet y Med. Ass., février 1927.
- SCHWARTZ. — Brucella abortus dans le lait. Zeits, für fleisch and Milch hyg., février 1929.
- W. SCOTT. — Un cas de fièvre ondulante en Angleterre. Brit. Medic. J., mai 1930, p. 861.
- SPRINGER. — Maladie de Bang chez le taureau. J. of A Vet y Méd. Ass., septembre 1928.

- SYRN WALL. — Sur le pourcentage de bacilles dans le lait des vaches à avortement épizootique. Rapport du XI^e congrès I de Méd. vétér., Londres, 1930.
- M. TAPIA et MARTIN de NICOLAS. — Différenciation de *micrococcus mélitensis* et de *bacillus abortus* par l'agglutination. C. R. Soc. de Biol., juillet 1926.
- TOULLEC et BLANCHARD. — Sur le traitement de la méliococcie par la protéine de *brucella abortus*. Bull. de la Soc. de Pathol. exotique, 1929, p. 150.
- R. VAN SACEGHEM. — Avortement épizootique propagé par le chien. C. R. de Soc. biol., janvier 1927.
- VAN DER HEDEN. — *Brucella abortus* cause de la fièvre ondulante chez l'homme. Tijds. voor Diergen, mars 1928.
- J. VIDAL. — Sur la différenciation de *micrococcus mélitensis* et de *bacillus abortus* par les substances chimiques, Soc. de Biol. de Barcelone, février 1928.
- J. VIDAL et R. ABELLA. — Sur la différenciation de *micrococcus mélitensis* et de *bacillus abortus* par les agglutinines. Soc. de Biol. de Barcelone, 1928, n° 29.
- H. VIOLLE. — Des possibilités de transmission de la fièvre ondulante par les oiseaux. Bull. de Acad. de Médecine, février 1931.
- H. VIOLLE. — La Fièvre ondulante, Paris 1931.
- WILLE. — Deux cas d'orchite par *brucella abortus*. Archiv. für w. prakt. tiera., février 1930.
- WILLIAMS, E. ROLAND et SLADDEN. — Un cas d'infection de l'homme par *abortus*. Brit. Méd. J., mai 1930.
- W. WILLIAMS. — Avortement contagieux des bovidés. The north am Vétér., décembre 1928.

- WILSON. — Cultures de *Brucella abortus* en tubes scellés.
Brit. J. of Exprim. Pathol., 1930, p. 157.
- WIMICKY et LARSON. — Préphylaxie de l'avortement contagieux dû au bacille de Bang. J. of A Vet y Med. Ass., décembre 1930.
- W. WISHART et H. GIBSON — Notes sur un nouveau cas de fièvre ondulante, due à *brucella abortus*, observée en Ecosse. Brit. Méd. J, Mai 1930.
- ZÆCHI. — Influence de l'avortement contagieux sur les parts qui suivent. Il unovo Escolani, septembre 1931.
-

